

**NANOTUBOS DE CARBONO.
EMPLEO COMO MATERIAL
ADSORBENTE PARA LA
DETERMINACIÓN DE METALES**

Jennifer Álvarez Méndez

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA,
NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS

LUGO 2015





UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Departamento de Química Analítica,
Nutrición y Bromatología

Facultad de Ciencias

Nanotubos de carbono. Empleo como material adsorbente para la determinación de metales

Fdo: Jennifer Álvarez Méndez

Memoria para optar al grado de Doctora en Química

LUGO

Septiembre 2015



Dna. Sagrario García Martín, Profesora Titular da Universidade, Dna. Rosa M^a Peña Crecente, Profesora Titular da Universidade e Dna. Julia Barciela García, Profesora Contratada Doutora, integrantes do Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía da Universidade de Compostela.

Como Directoras da Tese de Doutoramento titulada: **“Nanotubos de carbono. Empleo como material adsorbente para la determinación de metales”**.

Presentada por Dna. Jennifer Álvarez Méndez, alumna do Programa de Doutoramento Industrias alimentarias: ciencia, enxeñaría e prevención de riscos laboráis.

Autorizan a presentación da tese indicada, considerando que reúne os requisitos esixidos no artigo 34 do regulamento de Estudos de Doutoramento, e que como Director da mesma non incurre nas causas de abstención establecidas na lei 30/1992.

Asdo. Sagrario García Martín

Asdo. Rosa M^a Peña Crecente

Asdo. Julia Barciela García



Dna. Sagrario García Martín, Profesora Titular da Universidade, Dna. Rosa M^a Peña Crecente, Profesora Titular da Universidade e Dna. Julia Barciela García, Profesora Contratada Doutora, integrantes do Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía da Universidade de Compostela.

Como Directoras da Tese de Doutoramento titulada: **“Nanotubos de carbono. Empleo como material adsorbente para la determinación de metales”**.

Pola presente DECLARAN:

Que a tese presentada por Don/a Jennifer Álvarez Méndez, é idónea para ser presentada, de acordo co artigo 41 do *Regulamento de Estudos de Doutoramento*, pola modalidade de compendio de ARTIGOS, nos que o doutorando tivo participación no peso da investigación e a súa contribución foi decisiva para levar a cabo este traballo.

E que está en coñecemento dos coautores, tanto doutores como non doutores, participantes nos artigos, que ningún dos traballos reunidos nesta tese serán presentados por ningún deles noutra tese de Doutoramento, o que asino baixo a miña responsabilidade.

Lugo, a 3 de Septiembre de 2015.

Asdo. Sagrario García Martín

Asdo. Rosa M^a Peña Crecente

Asdo. Julia Barciela García



AGRADECEMENTOS

Quixera dar os meus sinceros agradecementos a todas aquelas persoas que coa súa axuda durante estes anos fixeron posible a realización deste traballo.

En primeiro lugar quero mostrar o meu agradecemento ás miñas directoras da tese, por confiar en min e darme a oportunidade de iniciarme no mundo da investigación. A Dra. Julia Barciela por acompañarme, guiarme e aconsellarme ao longo deste duro camiño, así como pola súa paciencia e axuda incondicional. A Dra. Rosa Peña pola seu constante apoio e dedicación, e tamén pola súa completa disposición á hora de resolver calquera dúbida ou problema e a Dra. Sagrario García pola súa supervisión e contribución a facer posible esta tese.

O meu recoñecemento tamén ao Dr. Carlos Herrero, polo seu interese e amabilidade, pola súa colaboración e por tódolos consellos recibidos.

Así mesmo, e fora xa do ámbito da universidade, quero facer unha mención especial ás "rapazas do Leiras", pola sorte que tiveron ao contar con tan boas compañeiras, pois dende o primeiro día déronme mostras de apoio e ánimo, interesáronse polo meu traballo e tendéronme a man sempre que a necesitei. Por isto e polos bos anacos que compartimos, que van deixando unha pegada imborrable, grazas.

Aos meus amigos, non fai falta que os nomee, eles saben quen son e o importantes que son para min. Grazas por estar sempre aí de xeito incondicional, por todos os momentos inesquecibles vividos ao voso lado e por todas esas palabras de ánimo cando as necesitei.

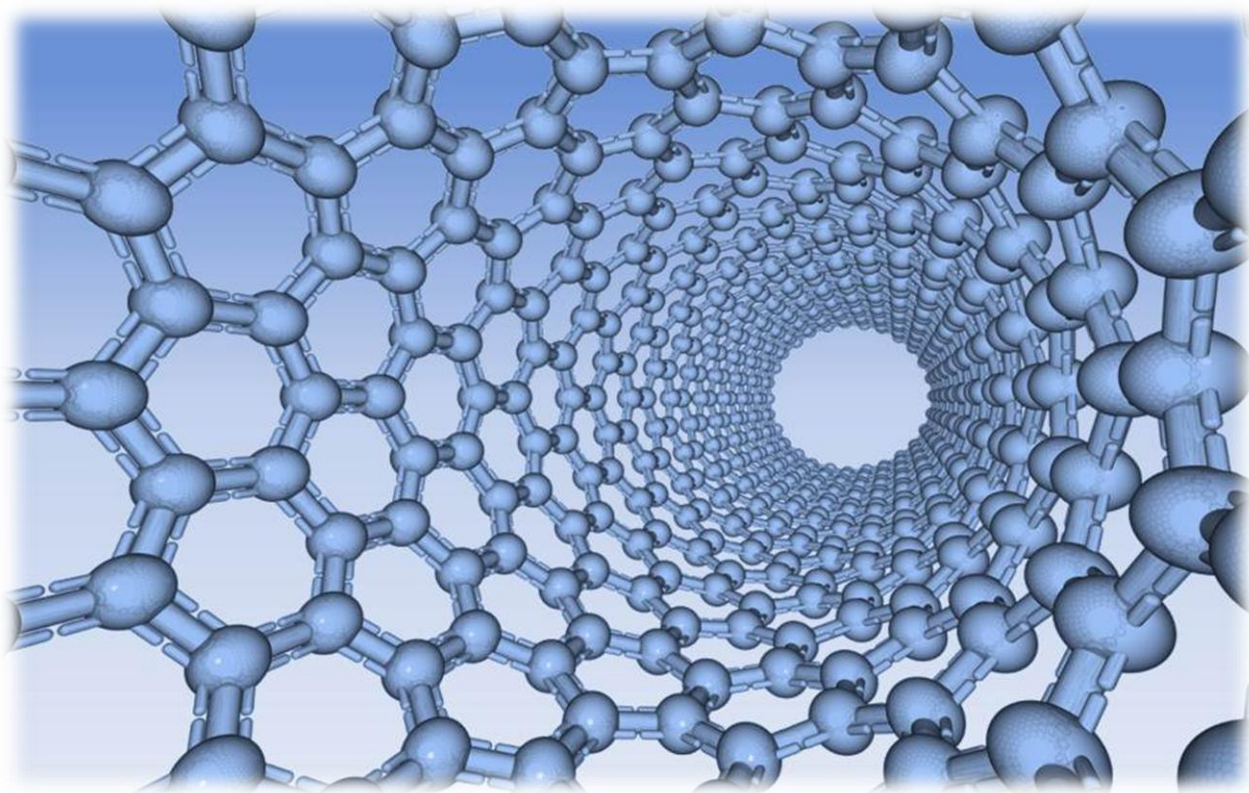
Por último, e moi especialmente, á miña parella e á miña familia, porque mo destes todo e se cheguei ata aquí foi grazas a vós, á vosa infinita paciencia, o voso cariño, comprensión e apoio incondicional. Porque todo o que son débovolo a vós.





*Aos meus pais
e aos meus avós*





ÍNDICE Y RESUMEN

ÍNDICE

ÍNDICE	III
RESUMEN.....	IX
1. OBJETIVOS	3
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1. LOS NANOTUBOS DE CARBONO (CNTs)	7
2.2. ESTRUCTURA Y DEFECTOS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO	9
2.3. PROPIEDADES DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO	11
2.3.1. <i>Propiedades eléctricas</i>	12
2.3.2. <i>Propiedades mecánicas</i>	12
2.3.3. <i>Conductividad térmica</i>	13
2.3.4. <i>Reactividad</i>	14
2.4. SÍNTESIS DE NANOTUBOS DE CARBONO	15
2.4.1. <i>Descarga de arco eléctrico</i>	15
2.4.2. <i>Ablación por láser</i>	17
2.4.3. <i>Deposición química en fase vapor</i>	19
2.5. PURIFICACIÓN	21
2.5.1. <i>Métodos químicos</i>	22
2.5.2. <i>Métodos físicos</i>	23
2.5.3. <i>Métodos en etapas múltiples</i>	24
2.6. FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO	24
2.6.1. <i>Funcionalización superficial</i>	26
2.6.1.1. <i>Funcionalización química</i>	26
2.6.1.2. <i>Funcionalización física</i>	29
2.6.2. <i>Funcionalización interna</i>	30
2.7. CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO	30
2.7.1. <i>Técnicas de microscopía y difracción</i>	31
2.7.2. <i>Técnicas espectroscópicas</i>	35
2.7.3. <i>Análisis termogravimétrico</i>	41
2.7.4. <i>Técnicas de separación</i>	43
2.7.5. <i>Volumetría de Boehm</i>	45
2.8. APLICACIONES ANALÍTICAS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO	46

2.8.1. Nanotubos usados como filtros y membranas	47
2.8.2. Usos de los CNTs basados en sus propiedades eléctricas.....	49
2.8.3. Usos de los CNTs basados en sus propiedades de adsorción	51
2.8.3.1. CNTs usados en las técnicas de separación	51
2.8.3.1.1. Empleo de los CNTs en cromatografía.....	51
2.8.3.1.2. Empleo de CNTs en electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y cromatografía electrocinética capilar	55
2.8.3.2. CNTs usados en sistemas de detección piezoeléctricos.....	58
2.8.3.3. CNTs usados en MALDI-TOF-MS	58
2.8.3.4. CNTs usados como adsorbente en extracción en fase sólida.....	59
2.9. CNTs COMO ADSORBENTE PARA LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE METALES Y DETERMINACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS.....	67
2.9.1. Introducción.....	67
2.9.2. Factores a considerar.....	69
2.9.3. Aplicaciones de los CNTs para la determinación de especies metálicas mediante SPE.....	75
2.9.3.1. Aplicaciones de nanotubos de carbono brutos y oxidados	75
2.9.3.1.1. Preconcentración del ión metálico en el nanotubo	76
2.9.3.1.2. Preconcentración de quelatos metálicos en el nanotubo	82
2.9.3.2. Aplicaciones de los nanotubos de carbono funcionalizados.....	87
2.9.3.2.1. CNTs funcionalizados por reacciones químicas en los defectos	87
2.9.3.2.2. CNTs funcionalizados mediante interacciones físicas.....	98
2.10. REFERENCIAS	103
2.11. PUBLICACIONES	122
Characterization of carbon nanotubes and analytical methods for their determination in environmental and biological samples: A review	123
Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to atomic spectrometric determination of metal species: A review	141
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	163
3.1. FUNCIONALIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO Y SU EFECTO EN LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	165
3.1.1. Introducción.....	165
3.1.2. Procedimiento experimental.....	168
3.1.2.1. Reactivos y material.....	168

3.1.2.2. Funcionalización.....	169
3.1.2.3. Caracterización	171
3.1.2.3.1. Microscopía electrónica de transmisión	171
3.1.2.3.2. Ensayos de sedimentación.....	171
3.1.2.3.3. Análisis por espectroscopía de infrarrojo	171
3.1.2.3.4. Análisis por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X	172
3.1.2.3.5. Análisis por valoración ácido-base de Boehm.....	172
3.1.2.3.6. Empleo de los CNTs en columnas de SPE	172
3.1.3. Resultados	173
3.1.3.1. Estructura morfológica	173
3.1.3.2. Ensayos de sedimentación	175
3.1.3.3. Análisis por espectroscopía de infrarrojo	177
3.1.3.4. Análisis por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X	179
3.1.3.5. Análisis por valoración ácido-base de Boehm.....	183
3.1.3.6. Empleo de los CNTs en columnas de SPE.....	184
3.1.4. Conclusiones	185
3.1.5. Referencias	186
3.2. NUEVO MÉTODO DE PRECONCENTRACIÓN MEDIANTE INYECCIÓN EN FLUJO BASADO EN NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO EN ORINA POR ETAAS.....	189
3.2.1. Introducción	190
3.2.2. Parte experimental	192
3.2.2.1. Instrumentación.....	192
3.2.2.2. Reactivos	193
3.2.2.3. Programa estadístico.....	193
3.2.2.4. Muestras de orina	194
3.2.2.5. Procedimientos analíticos.....	194
3.2.2.5.1. Método ETAAS directo para la determinación de cadmio en orina.....	194
3.2.2.5.2. Método ETAAS para la determinación de cadmio en orina después de la preconcentración en columna con MWCNTs.....	194
3.2.3. Resultados y discusión.....	195
3.2.3.1. Pretratamiento de los MWCNTs y preparación de la microcolumna.....	195
3.2.3.2. Optimización de la etapa de extracción/preconcentración	196
3.2.3.2.1. Efecto del pH.....	196

3.2.3.2.2. Influencia de la velocidad de flujo de muestra	197
3.2.3.2.3. Efecto de los parámetros de elución	198
3.2.3.2.4. Efecto de los factores de la orina (porcentaje de orina, volumen de la disolución de muestra) y masa de adsorbente.....	199
3.2.3.2.5. Reutilización de la columna.....	200
3.2.3.3. Optimización de los programas de ETAAS.....	201
3.2.3.3.1. Optimización del programa ETAAS para cadmio en orina	201
3.2.3.3.2. Optimización del programa ETAAS para el eluyente	202
3.2.3.3.3. Evaluación de interferencias.....	202
3.2.3.4. Características analíticas del método.....	203
3.2.3.5. Análisis de muestras reales.....	206
3.2.4. Conclusiones.....	206
3.2.5. Referencias	208
3.2.6. Publicación.....	211
A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine	213
3.3. NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE COMO MATERIAL ADSORBENTE PARA LA EXTRACCION EN FASE SÓLIDA DE PLOMO EN ORINA Y SU POSTERIOR DETERMINACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA.....	221
3.3.1. Introducción.....	222
3.3.2. Material y métodos	223
3.3.2.1. Aparatos y programa estadístico.....	223
3.3.2.2. Reactivos	224
3.3.2.3. Pretratamiento de los MWCNTs y preparación de la microcolumna	225
3.3.2.4. Muestras de orina.....	225
3.3.2.5. Procedimiento analítico SPE-ETAAS	225
3.3.3. Resultados y discusión.....	226
3.3.3.1. Optimización de la SPE	226
3.3.3.2. Efecto de la dilución de la orina, volumen de muestra y masa de adsorbente.....	229
3.3.3.3. Optimización de las condiciones ETAAS	229
3.3.3.4. Evaluación de interferencias.....	231
3.3.3.5. Reutilización de la columna.....	231
3.3.3.6. Características analíticas del método.....	232
3.3.3.7. Análisis de muestras reales de orina.....	236

3.3.4. Conclusiones	236
3.3.5. Referencias	237
3.3.6. Publicación.....	239
Multiwalled carbon nanotubes as a sorbent material for the solid phase extraction of lead from urine and subsequent determination by electrothermal atomic absorption spectrometry	241
3.4. DETERMINACIÓN DE CADMIO Y PLOMO EN ORINA DESPUÉS DE SU EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EN NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA USANDO SUSPENSIONES	247
3.4.1. Introducción	248
3.4.2. Parte experimental	250
3.4.2.1. Aparatos	250
3.4.2.2. Reactivos	250
3.4.2.3. Programa estadístico.....	251
3.4.2.4. Muestras de orina y materiales de referencia certificados.....	251
3.4.2.5. Preparación de los MWCNTs.....	251
3.4.2.6. Procedimiento analítico DSPE–SS–ETAAS.....	252
3.4.3. Resultados y discusión.....	253
3.4.3.1. Optimización de las condiciones de ETAAS	253
3.4.3.2. Cribado de los factores que influyen en la preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE y en la preparación del <i>slurry</i>	254
3.4.3.2.1. Preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE	254
3.4.3.2.2. Preparación del <i>slurry</i>	256
3.4.3.3. Optimización de los factores que influyen en la preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE y en la preparación del <i>slurry</i>	258
3.4.3.4. Optimización del volumen del <i>slurry</i>	260
3.4.3.5. Características analíticas	261
3.4.3.6. Análisis de muestras reales de orina.....	266
3.4.4 Conclusiones	267
3.4.5. Referencias	268
3.4.6. Publicación.....	270
Determination of cadmium and lead in urine samples after dispersive solid–liquid extraction on multiwalled carbon nanotubes by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry orina	271

5. CONCLUSIONES.....	281
5. ANEXO	289
5.1. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	289



RESUMEN

Desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono (CNTs) en 1991, se hizo patente su evidente potencial como material adsorbente para la extracción en fase sólida (SPE) debido a su elevada área superficial y volumen interno, su estabilidad, resistencia mecánica y la posibilidad de establecer interacciones π - π . En esta tesis doctoral y tras una amplia revisión bibliográfica, se presenta una visión general de las tendencias en el uso de CNTs para la determinación de especies metálicas en muestras ambientales, biológicas y alimentarias mediante SPE. Se ha descrito también la síntesis, purificación, así como las diversas estrategias para su funcionalización.

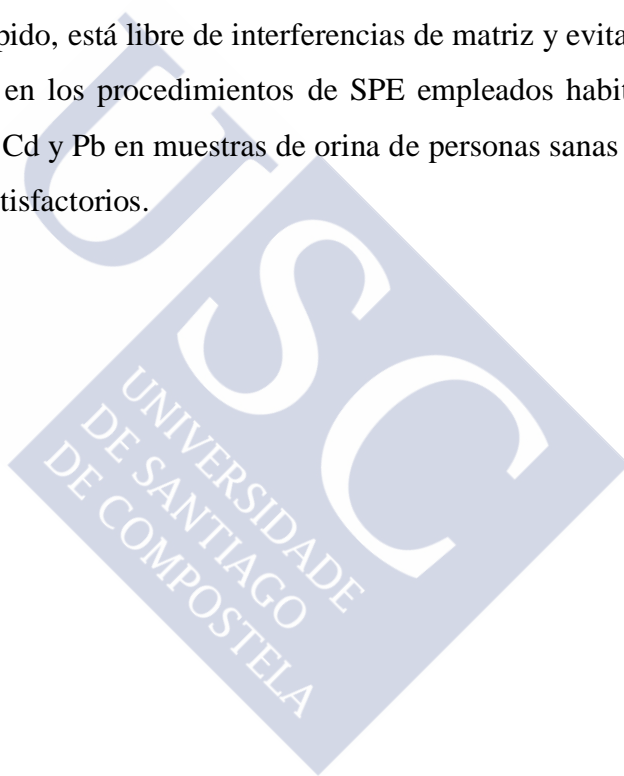
Como los procedimientos de síntesis de nanotubos disponibles en la actualidad no aseguran la homogeneidad del producto en relación con su longitud y con su diámetro, y teniendo en cuenta que su toxicidad depende de su morfología, en los últimos años se ha hecho un gran esfuerzo para caracterizar los CNTs. En este trabajo se presenta una revisión de las técnicas usadas para la caracterización de los nanotubos de carbono basada en más de 170 referencias en el período 2000-2014.

Durante la realización de esta tesis doctoral se han desarrollado nuevos métodos de extracción en fase sólida para la determinación de metales traza en muestras de orina usando MWCNTs (nanotubos de carbono de pared múltiple). En primer lugar, y debido a la gran tendencia a la agregación espontánea que presentan los CNTs puros, se han estudiado diferentes procesos de oxidación de los mismos ya que la funcionalización con grupos carboxílicos, hidroxilo, etc. mejora su solubilidad y su capacidad de adsorción. Para evaluar la eficacia de la oxidación realizada se han empleado diferentes técnicas de caracterización y se estudió su uso como adsorbentes en sistemas de SPE.

Se han desarrollado dos nuevos métodos de inyección en flujo (FIA) por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) para la determinación de cadmio y plomo en orina. En ambos casos, el Cd y el Pb se separaron de la matriz de orina por medio de un procedimiento de extracción en fase sólida, utilizando MWCNTs oxidados como material adsorbente y posteriormente fueron cuantitativamente eluidos con ácido nítrico. Los efectos de los parámetros que influyen en los procesos de adsorción-elución y las

condiciones de espectrometría atómica se estudiaron por medio de diferentes estrategias de diseño factorial. Los métodos desarrollados mostraron unas adecuadas características analíticas y se aplicaron con éxito a la determinación de cadmio y plomo en muestras de orina de personas sanas.

Por último se ha desarrollado un nuevo método para la determinación conjunta de Cd y Pb en muestras de orina, el cual implica una extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) y la determinación directa de ambos metales mediante espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica en las suspensiones obtenidas. Como material adsorbente se emplearon, al igual que en los casos anteriores, nanotubos de carbono multipared oxidados. El método obtenido es sensible, rápido, está libre de interferencias de matriz y evita las etapas de adsorción y elución necesarias en los procedimientos de SPE empleados habitualmente. Se aplicó para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina de personas sanas no expuestas, obteniéndose unos resultados satisfactorios.





1. OBJETIVOS

1. OBJETIVOS

La determinación de metales presentes a niveles traza en muestras complejas requiere el empleo de técnicas de espectrometría debido a sus características analíticas: buena selectividad y sensibilidad adecuada. Sin embargo, a pesar de la elevada sensibilidad de estas técnicas, en ciertos casos ésta no es suficiente para determinar la concentración del metal a los bajos niveles en que pueden encontrarse en algunas muestras biológicas y/o medioambientales y además, como consecuencia de las interferencias de matriz, estas técnicas tienen algunas limitaciones. Por lo que, a pesar de los avances en instrumentación analítica, los procedimientos de separación y preconcentración siguen siendo una estrategia analítica esencial previa a la propia etapa de determinación del analito. Por estas razones, en los últimos años, ha aumentado considerablemente el estudio del uso de los nanotubos de carbono como adsorbentes en extracción en fase sólida para la determinación de metales.

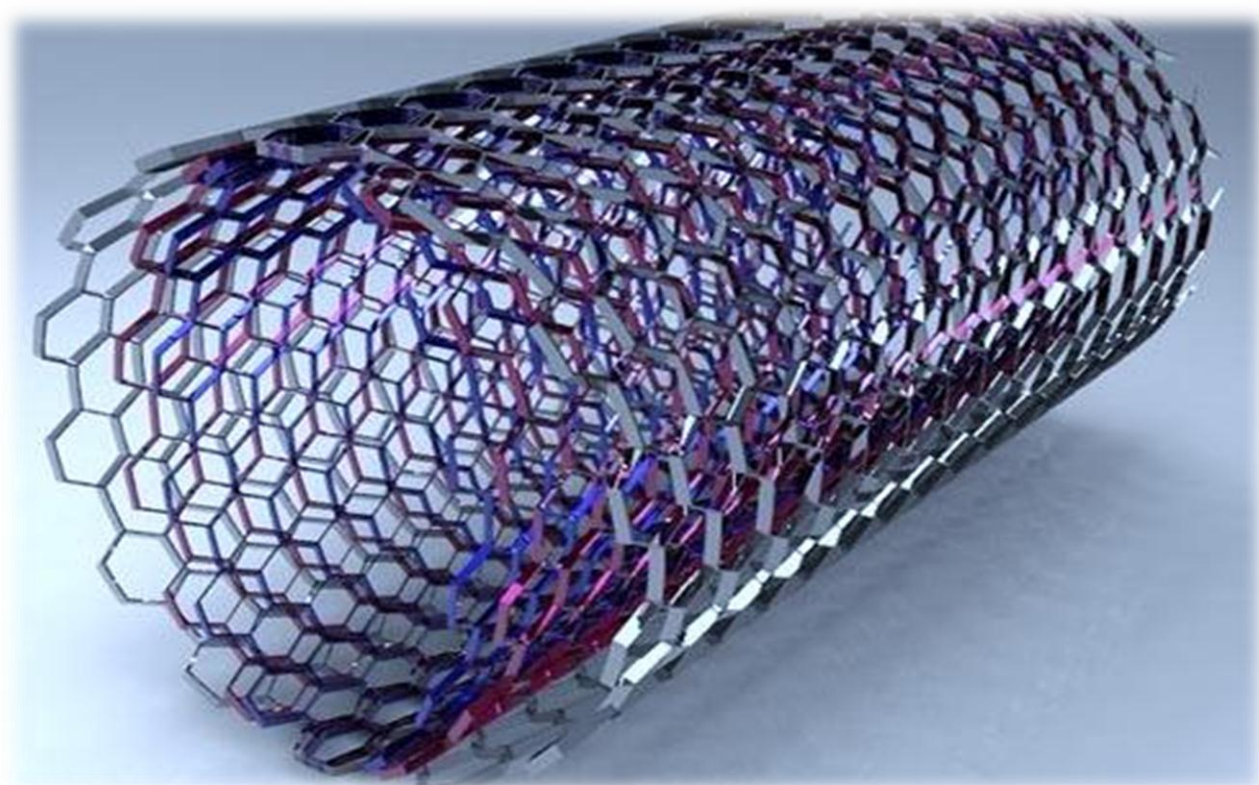
Como consecuencia de lo expuesto, en el presente trabajo se han planteado los siguientes objetivos:

- 1.-Realizar un estudio previo sobre el estado de conocimiento de los nanotubos de carbono: procesos de síntesis, propiedades, purificación y funcionalización, caracterización y aplicaciones haciendo especial hincapié en:
 - La descripción de las técnicas de caracterización de nanotubos de carbono más importantes.
 - La presentación de una visión general de las aplicaciones de los nanotubos de carbono para la preconcentración en fase sólida de metales en diversas matrices y su posterior determinación mediante técnicas de espectrometría atómica.
- 2.-Llevar a cabo diferentes procedimientos de funcionalización de nanotubos de carbono multicapa, evaluando con cuál de ellos se logra una mejor funcionalización, con el fin de emplearlos posteriormente en la preconcentración de metales traza. Para ello se aplicarán diferentes técnicas de caracterización como la microscopía electrónica de transmisión (TEM), la espectroscopía de infrarrojo (IR), la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), se realizarán ensayos de sedimentación, cuantificación de los grupos funcionales

existentes y, así mismo, se estudiará el efecto de su empleo en un sistema de extracción SPE, en el cual los nanotubos de carbono oxidados se emplearán como empaquetamiento de la columna.

- 3.-Desarrollar métodos para la separación y preconcentración de cadmio y plomo en muestras de orina, usando nanotubos de carbono de pared múltiple como adsorbente en extracción en fase sólida, y su posterior determinación mediante espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). Se optimizarán procedimientos de preconcentración empleando sistemas de inyección en flujo y realizando la extracción en fase sólida dispersiva. La efectividad y aplicabilidad se demostrará mediante el estudio de las características analíticas de los métodos y midiendo muestras de orina de personas no expuestas a estos metales.





2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LOS NANOTUBOS DE CARBONO (CNTs)

El diamante y el grafito son las dos formas alotrópicas naturales del carbono puro. En el diamante, los átomos de carbono presentan una hibridación sp^3 , en la cual los cuatro enlaces están dirigidos a los vértices de un tetraedro, obteniéndose una red tridimensional extremadamente rígida, que confiere al diamante su dureza característica. En el grafito, la hibridación es sp^2 , de forma que cada átomo de carbono está conectado con otros dos en el plano xy (120°) y en el eje z se forma una nube electrónica π . La hibridación sp^2 es la responsable de la estructura hexagonal (panal de abeja) típica de las láminas de grafito. En 1985 Kroto [1] descubrió una nueva forma alotrópica del carbono, el buckminsterfullereno, C_{60} . Además del diamante, grafito y fullerenos (C_{60} , C_{70} , etc.), otra forma alotrópica del carbono son los nanotubos de carbono (CNTs), descubiertos en 1991 por Iijima [2], como productos secundarios de la síntesis de los fullerenos. Desde su descubrimiento, los nanotubos de carbono han generado un gran interés debido a su estructura única, ya que son sistemas casi unidimensionales (Figura 1) y a sus extraordinarias propiedades (eléctricas, mecánicas, químicas, etc.), que han llevado a que sean utilizados en un gran número de campos, que van desde dispositivos electrónicos y sensores a materiales nanocompuestos de gran resistencia y muy ligeros, pasando por aplicaciones en la Química Analítica, como adsorbentes o como sensores [3].

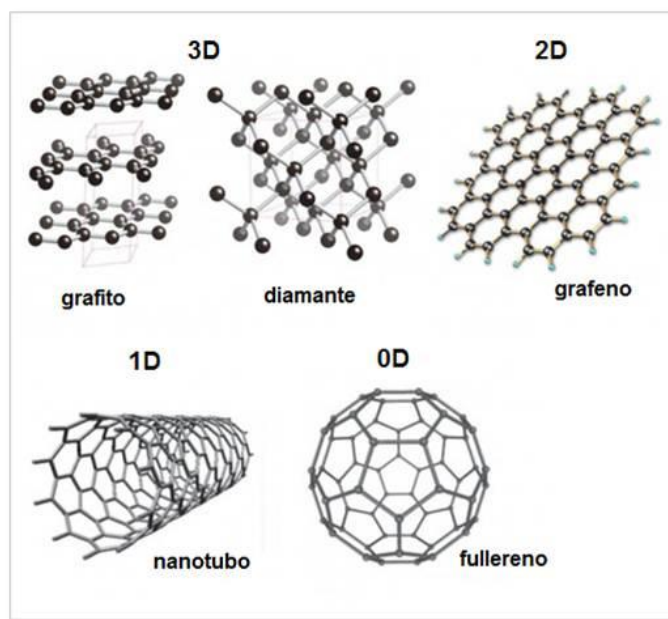


Figura 1. Estructuras de las diferentes formas alotrópicas del carbono [3].

Los nanotubos de carbono están constituidos por láminas de grafeno enrolladas sobre sí mismas en forma de largos cilindros de diámetro nanométrico y cuyos extremos suelen estar

cerrados por semiesferas de estructura tipo fullereno con defectos. Desde el punto de vista estructural existen dos tipos de nanotubos de carbono: monocapa (*single-walled*, SWCNTs) y multicapa (*multi-walled*, MWCNTs) (Figura 2).

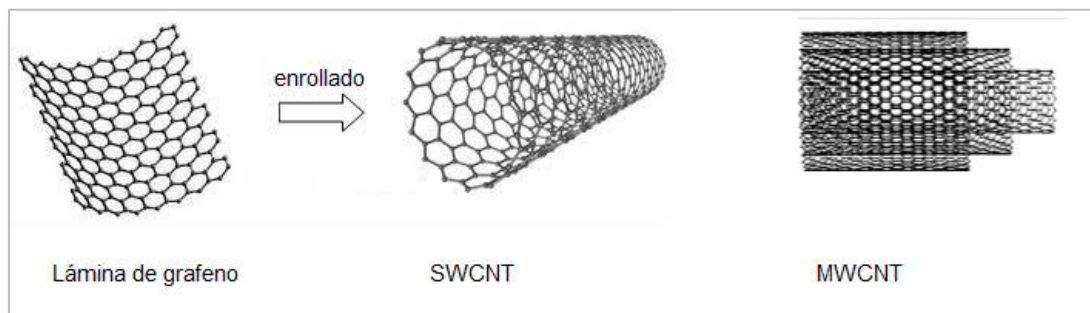


Figura 2. Representación tridimensional de los nanotubos de carbono.

Los nanotubos multicapa o MWCNTs, están constituidos por varias capas de grafeno concéntricas, con una separación regular entre capas de 3.44 Å [4] y actuando entre éstas fuerzas de van der Waals. Dependiendo del número de capas, su diámetro interno varía de 0.4 hasta unos pocos nanómetros y su diámetro externo oscila entre 2 y 30 nm [5].

Los nanotubos monocapa o SWCNTs [6], están constituidos por una única capa de grafeno enrollada sobre sí misma y con forma de cilindro. Generalmente son más estrechos que los MWCNTs y tienden a ser curvos en vez de rectos [7]. Su longitud es del orden de varias micras y su diámetro varía de 0.4 nm hasta 2 o 3 nm, dependiendo del tipo de síntesis empleada, así como de las condiciones experimentales y de los catalizadores utilizados. A causa de las fuertes interacciones de van der Waals existentes entre las paredes de ellos, los SWCNTs tienden espontáneamente a

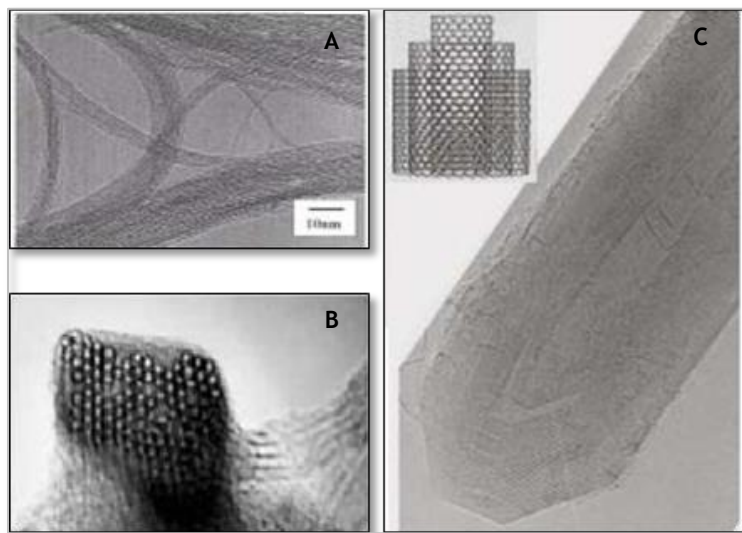


Figura 3. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución: A) nanotubos de carbono monocapa, SWCNTs; B) haces de nanotubos agrupados y C) nanotubos multicapa MWCNTs.

ordenarse en empaquetamientos hexagonales o haces de varios cientos de nanotubos (Figura 3), los cuales se corresponden con la disposición más compacta [8].

2.2. ESTRUCTURA Y DEFECTOS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

Las láminas de grafeno que constituyen los nanotubos de carbono pueden enrollarse siguiendo diferentes orientaciones; según esto, los SWCNTs se pueden clasificar en tres categorías: *armchair*, *zig-zag* y *quirales* (Figura 4).

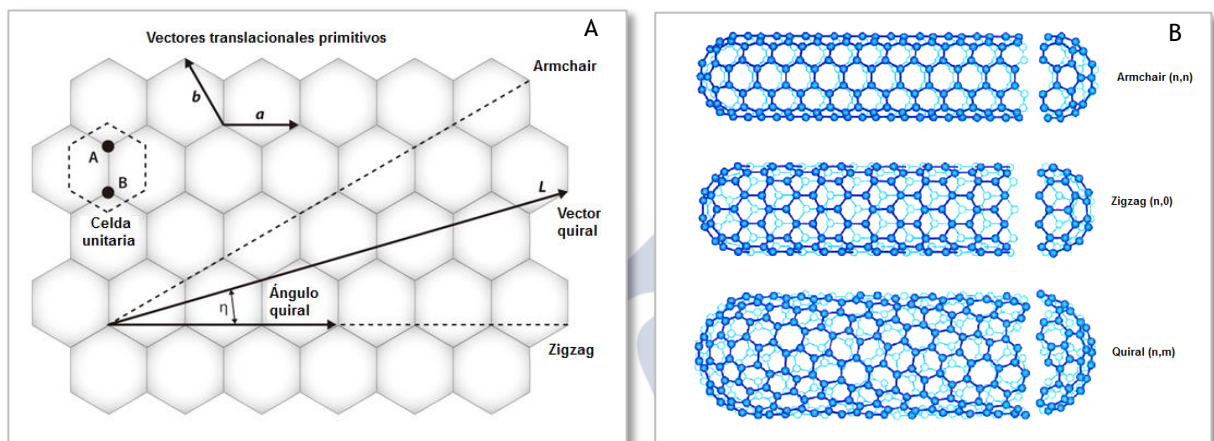


Figura 4. A) Tipo de enrollamiento a partir de una lámina de grafeno para formar SWCNTs.

B) Esquema correspondiente a las tres estructuras diferentes de SWCNTs.

La dirección en que la lámina de grafeno se enrolla para formar un nanotubo viene establecida por el vector quiral (L) [9], que además determina el diámetro del nanotubo. El vector quiral conecta dos puntos cristalográficamente equivalentes A y B en una capa de grafeno (2D) y viene dado por la siguiente ecuación: $L = na + mb \equiv (n, m)$. En la expresión anterior a y b son vectores unitarios de la red hexagonal y n y m son números enteros. Este par de índices (n, m) describen todos los tipos de nanotubos que se pueden encontrar ya que representan las diferentes maneras de enrollar la capa de grafeno. El ángulo formado entre la dirección del vector quiral y la dirección del vector a se denomina ángulo quiral (η) y viene dado por la forma en que se posicionan las redes hexagonales de carbono respecto al eje del tubo. El ángulo quiral y los índices (n, m) determinan lo que se denomina la quiralidad o helicidad de los nanotubos (Figura 4):

- Nanotubos *armchair*: $\eta = 30^\circ \rightarrow$ todos los nanotubos donde $n = m$ (n, n).
- Nanotubos *zig-zag*: $\eta = 0^\circ \rightarrow$ todos los nanotubos que son $(n, 0)$ ó $(0, m)$.
- Nanotubos *quirales*: $0^\circ \leq \eta \leq 30^\circ \rightarrow$ notación general para el resto de nanotubos (n, m) .

Los nanotubos de carbono con diferente estructura o quiralidad presentarán distribuciones electrónicas distintas y por ello propiedades físicas y químicas diferentes. Cuando $n-m$ es múltiplo de tres, el nanotubo será altamente conductor o metálico y en los demás casos, los nanotubos se consideran semiconductores o semimetálicos [5].

En cuanto a los MWCNTs, se pueden formar según dos modelos estructurales: el modelo muñeca rusa (*Russian Doll model*) y el modelo pergamino (*Parchment model*). El modelo muñeca rusa corresponde a la estructura de un nanotubo que contiene otro u otros en su interior y en la cual el diámetro del nanotubo externo es mayor que el diámetro del nanotubo interno. Por su parte, el modelo pergamino se corresponde con una lámina de grafeno simple enrollada varias veces sobre sí misma.

Tanto los MWCNTs como los SWCNTs tienen propiedades similares, aunque debido a la naturaleza multicapa de los MWCNTs, sus paredes externas, no sólo ofrecen protección a las capas internas de interacciones con otras sustancias, sino que también les proporcionan una elevada resistencia a esfuerzos de tensión, que no existe en los SWCNTs (o existe sólo parcialmente).

En general, la presencia de defectos estructurales suele ser indeseable, pero en el caso de los nanotubos puede dar lugar a nuevas e interesantes estructuras. Las deformaciones, como por ejemplo curvaturas o uniones, aparecen cuando un hexágono es sustituido por un pentágono o heptágono y afectan seriamente, entre otras, a las propiedades eléctricas. Además se pueden considerar defectos aquellas impurezas introducidas durante la síntesis de los nanotubos, como por ejemplo los catalizadores empleados. También se pueden producir modificaciones al soldar los nanotubos con una radiación de electrones, formándose cruces de nanotubos al establecerse uniones moleculares estables. La exposición a un haz de electrones a elevada temperatura, procedente por ejemplo de un microscopio de transmisión, induce defectos estructurales que fomentan la unión de nanotubos [10]. Este hecho se pone de manifiesto en la Figura 5; en la Figura 5A pueden verse dos nanotubos cruzados con diámetros aproximados de 2.0 nm y 0.9 nm y en la Figura 5B se observa que tras 60 segundos de irradiación con electrones se promueve una unión molecular entre los dos nanotubos dando lugar a una unión en forma de X. Las imágenes inferiores de las Figuras 5A y 5B presentan los modelos moleculares donde los defectos estructurales (anillos heptagonales) están marcados en rojo. La micrografía de microscopía electrónica de

transmisión de alta resolución (HRTEM) y su correspondiente modelo molecular Figura 5C son un ejemplo de una unión tipo Y formada a partir de la irradiación de una unión tipo X.

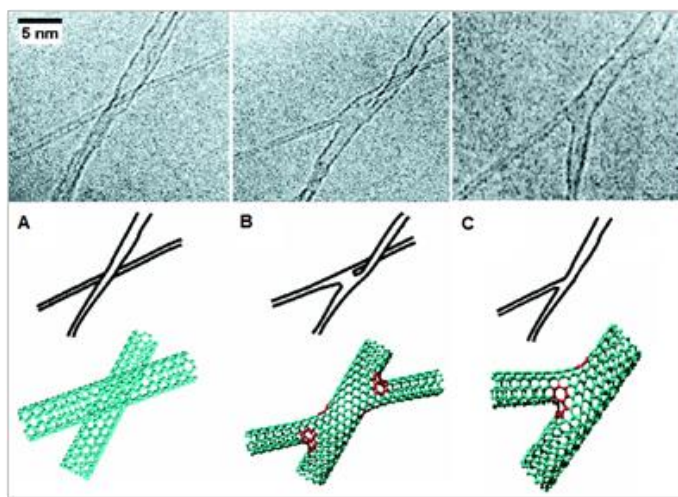


Figura 5. Imágenes de HRTEM y modelos moleculares: A) cruce de dos nanotubos; B) estructura obtenida tras 60 segundos de irradiación con electrones; C) unión tipo Y formada a partir de la irradiación de una unión tipo X.

2.3. PROPIEDADES DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

Los nanotubos de carbono son un material con unas excelentes propiedades que los hacen válidos para multitud de aplicaciones. Se caracterizan por tener áreas superficiales muy elevadas, por ser insolubles en agua debido a su naturaleza química, por su tendencia a agregarse entre sí en haces de varios cientos de tubos [11] y por sus espacios huecos, los cuales ofrecen muchas posibilidades interesantes ya que pueden servir para almacenar moléculas huésped y para llevar a cabo diferentes reacciones químicas [12].

En la Tabla 1 se muestran sus principales propiedades físicas y, aunque no hay consenso sobre éstas, está claro que los CNTs tienen muchas ventajas sobre otras formas alotrópicas del carbono en cuanto a propiedades mecánicas, eléctricas y térmicas. A continuación se describen brevemente.

Tabla 1. Propiedades físicas de las diferentes formas alotrópicas del carbono [3,15].

	Forma alotrópica del carbono				
	grafito	diamante	fullerenos	SWCNT	MWCNT
Densidad (g cm^{-3})	1.9-2.03	3.52	1.7	0.8	1.8
Conductividad eléctrica (S cm^{-1})	$4000^{\text{p}}\text{-}3.3^{\text{c}}$	$10^{-2}\text{-}10^{-15}$	10^{-5}	$10^2\text{-}10^6$	$10^3\text{-}10^5$
Movilidad eléctrica ($\text{cm}^2 \text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$)	2.0×10^4	1800	0.5-6	$\approx 10^5$	$10^4\text{-}10^5$
Conductividad térmica ($\text{W m}^{-1}\text{K}^{-1}$)	$298^{\text{p}}\text{-}2.2^{\text{c}}$	900-2320	0.4	6000	2000
Coefficiente de expansión térmica (K^{-1})	$-1 \times 10^{-6\text{p}}$	$1 \approx 3 \times 10^{-6}$	6.2×10^{-5}	Insignificante	Insignificante
Estabilidad térmica en aire ($^{\circ}\text{C}$)	450-650	<600	≈ 600	>600	>600
Resistencia mecánica (GPa)	-	-	-	50-500	10-50
Módulo elástico (TPa)	1^{p}	-	-	1	0.3-1

p: en plano; c: axial

2.3.1. Propiedades eléctricas

Los CNTs tienen unas propiedades eléctricas extraordinarias, su quiralidad tiene un impacto significativo en sus propiedades eléctricas, ya que en función de ésta pueden ser conductores o semiconductores. Los SWCNTs tipo *armchair* ($n = m$) son siempre de carácter metálico, mientras que los quirales o zig-zag son metálicos cuando $n-m$ es múltiplo de tres, calculándose entonces que un tercio de las posibles helicidades corresponden a nanotubos metálicos [9]. Las propiedades eléctricas de los MWCNTs son bastante similares a las de los SWCNTs, ya que el acoplamiento entre las diferentes capas de los MWCNTs es muy débil.

Tanto en MWCNTs como en SWCNTs metálicos, debido a su estructura electrónica unidimensional, el transporte de electrones tiene lugar a lo largo de toda la longitud del tubo, permitiendo así una gran conductividad sin que se produzca calentamiento [13]. De hecho, los CNTs pueden transportar una densidad de corriente mayor que la transportada por un cable de cobre del mismo diámetro.

2.3.2. Propiedades mecánicas

Se ha comprobado, tanto por microscopía electrónica de transmisión (TEM) como por microscopía de fuerza atómica (AFM), que los nanotubos son estructuras altamente elásticas, flexibles y que llegan a soportar grandes torsiones (Figura 6), poseyendo una elasticidad mayor que cualquier otro material conocido hasta el momento [14]. Bajo fuerzas de compresión elevadas pueden doblarse, retorcerse y volver a su forma original sin que el

nanotubo resulte dañado. Aun así su elasticidad tiene un límite y bajo fuerzas muy grandes es posible deformarlos.

Su densidad puede ser tan baja como 0.8 g cm^{-3} (una sexta parte la del acero inoxidable), mientras que su módulo de Young es superior al de todas las fibras de carbono, con valores de hasta 1 TPa (aproximadamente cinco veces mayor al del acero). Sin embargo es su resistencia a

fuerzas de tracción lo que realmente los diferencia de otros materiales [7]. El enlace covalente en los nanotubos de carbono está basado en sus uniones carbono-carbono tipo sp^2 , este enlace es más fuerte que los sp^3 que se encuentran en el diamante [15], haciendo que los CNTs tengan una resistencia a la tracción mayor incluso que la del acero, pudiendo llegar a soportar fuerzas de tracción de 50-500 GPa. Es importante también señalar que sus propiedades mecánicas dependen de manera importante de la presencia o no de defectos estructurales.

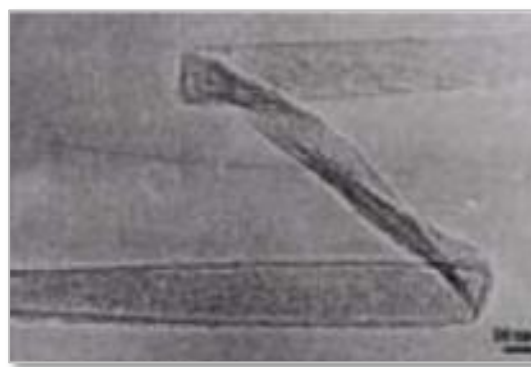


Figura 6. Micrografía TEM de alta resolución donde se demuestra la flexibilidad de un nanotubo de carbono [9].

2.3.3. Conductividad térmica

Como resultado de la fuerza de los enlaces atómicos existentes en los CNTs, además de resistir elevadas temperaturas, también se ha demostrado que son muy buenos conductores térmicos. Pueden soportar hasta $750 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en condiciones normales y hasta $2800 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a presiones reducidas [5] y en cuanto a la conductividad térmica a temperatura ambiente, la de un MWCNT individual ($>2000 \text{ W m}^{-1}\text{K}^{-1}$) es mayor que la del diamante natural y que la del grafito [13].

Al hablar sobre esta propiedad es importante indicar que, como diferentes autores han demostrado, se ve afectada por la temperatura. Así en 1999, J. Hone y col. [16] comprobaron que la conductividad térmica de los nanotubos mantiene una relación casi lineal con la temperatura. En el año 2000, Berber y col. [17] determinaron la conductividad térmica de los nanotubos de carbono y su dependencia de la temperatura, confirmando los estudios previos de Hone. Sin embargo, sugirieron que las gráficas de dependencia de la conductividad térmica con la temperatura eran mucho menos lineales que las propuestas previamente por éste. En

lugar de una gráfica casi lineal con pendiente positiva, su trabajo mostró una pendiente positiva desde bajas temperaturas hasta 100 K, donde la conductividad térmica alcanza su valor máximo (alrededor de $37000 \text{ W m}^{-1}\text{K}^{-1}$). Es a partir de ahí, cuando la conductividad térmica cae drásticamente hasta un valor de alrededor de $3000 \text{ W m}^{-1}\text{K}^{-1}$ cuando la temperatura alcanza los 400 K (Figura 7).

Se puede establecer por tanto que la conductividad térmica de los CNTs depende de forma importante de la temperatura, y que posiblemente depende también de la concentración de electrones y de los huecos presentes [18].

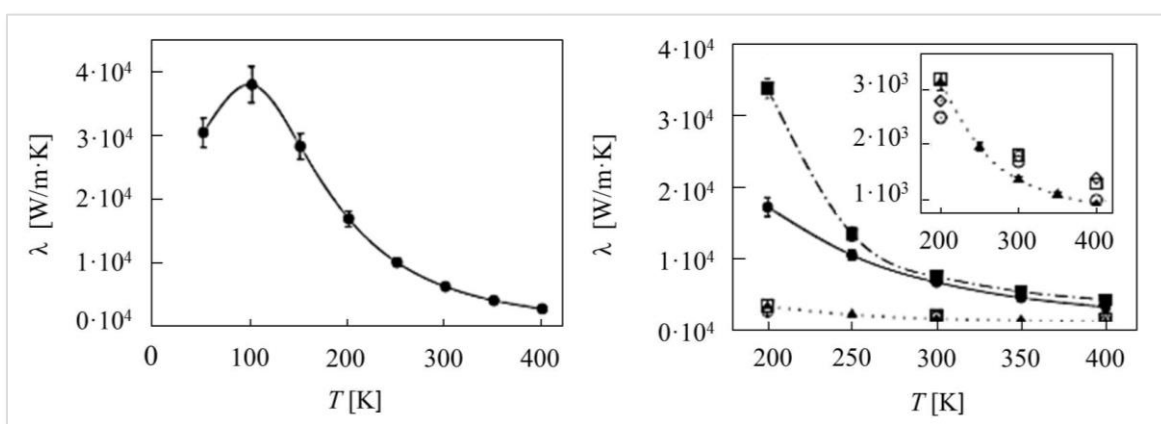


Figura 7. Conductividad térmica como función de la temperatura (Berber y col.) [17].

2.3.4. Reactividad

La reactividad química de los nanotubos de carbono, ha sido objeto de numerosos estudios [19,20]. Las paredes del nanotubo no son reactivas, pero sus extremos de tipo fullereno tienen la característica de ser más activos [21]. Aun así, la reactividad química de un nanotubo es más elevada que la de una lámina de grafeno, debido a la curvatura de la superficie, y menor que la de los fullerenos que soportan una gran tensión debido a su forma esférica (Figura 8). La explicación a estas diferentes reactividades es que el radio de la curvatura de los

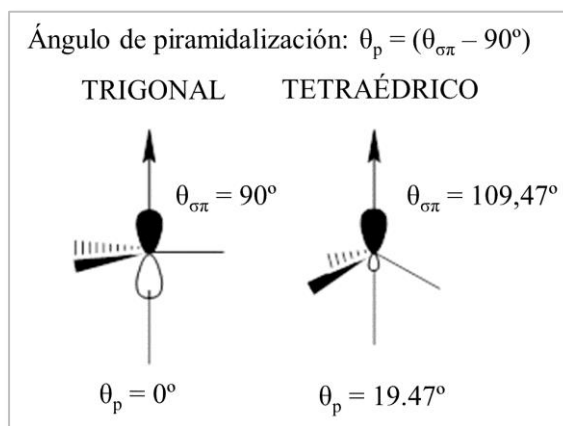


Figura 8. Ángulo Piramidal (θ_p).

nanotubos hace que los enlaces C-C no sean planos como lo serían de haber una hibridación sp^2 pura, donde el ángulo piramidal es $\theta_p = 0^\circ$, sino que adopta cierto carácter sp^3 , donde el ángulo piramidal es $\theta_p = 19.5^\circ$ [22]. Cuando la curvatura del nanotubo aumenta, θ_p también aumenta, lo que explica que los CNTs sean más reactivos que una capa de grafeno plana y menos reactivos que los fullerenos en los cuales θ_p es 11.6° . La reactividad química de los nanotubos dependerá en gran manera del tipo de síntesis empleada, y por ello del número de defectos.

2.4. SÍNTESIS DE NANOTUBOS DE CARBONO

Los nanotubos pueden ser producidos por diferentes técnicas, siendo las más empleadas, debido a su rendimiento: la descarga de arco eléctrico (CAD), la ablación por láser (LA) y la deposición química de especies carbonosas en fase vapor, comúnmente denominada CVD. Además también se producen nanotubos utilizando la técnica de evaporación inducida por energía solar, por electrólisis o por pirólisis de un hidrocarburo en una llama, entre otras.

En la actualidad, se continúa investigando para desarrollar otras técnicas de síntesis o mejoras de las actuales, ya que para poder llevar a cabo aplicaciones a gran escala se ha de disponer de técnicas capaces de producir estas estructuras en grandes cantidades y de forma económica. Pero además, también se busca controlar, durante el proceso de síntesis, parámetros como la pureza de los CNTs, su configuración (quiralidad) y su calidad estructural.

2.4.1. Descarga de arco eléctrico

Esta técnica es una de las más antiguas para la producción de nanotubos, y la primera utilizada por Iijima en 1991 [2]. El proceso de descarga de arco eléctrico (CAD) emplea temperaturas elevadas (por encima de 1700°C) y permite la obtención de CNTs con menos defectos estructurales que otros métodos de síntesis [5].

La descarga se realiza entre dos electrodos fabricados en material carbonoso (normalmente grafito con o sin metales) con unos diámetros entre 6 y 12 mm y refrigerados por agua. Estos electrodos se colocan en una cámara muy cerca uno del otro (separados 1-2 mm), en una atmósfera inerte de helio (también se puede utilizar hidrógeno o

metano) [23] y a una presión inferior a la atmosférica (500 Torr). En la Figura 9 se muestra un dispositivo experimental típico de descarga de arco eléctrico [24]. Al aplicar una diferencia de potencial (25-40 V) y una corriente continua (50-150 A) se genera un plasma que evapora el material hacia el cátodo. El tiempo de la reacción varía de 30-60 s a 2-10 min [25]. Durante este proceso, aproximadamente la mitad del carbono evaporado se solidifica sobre el cátodo, formando un depósito que crece a una velocidad de 1 mm min^{-1} [26] y que se conoce como “estructura de cigarrillo”, mientras que el ánodo se consume. El carbono restante se condensa como hollín sobre la periferia y sobre el cátodo. El núcleo interno de este hollín, que es oscuro y suave, está formado por SWCNTs, MWCNTs y por partículas gráficas poliédricas anidadas.

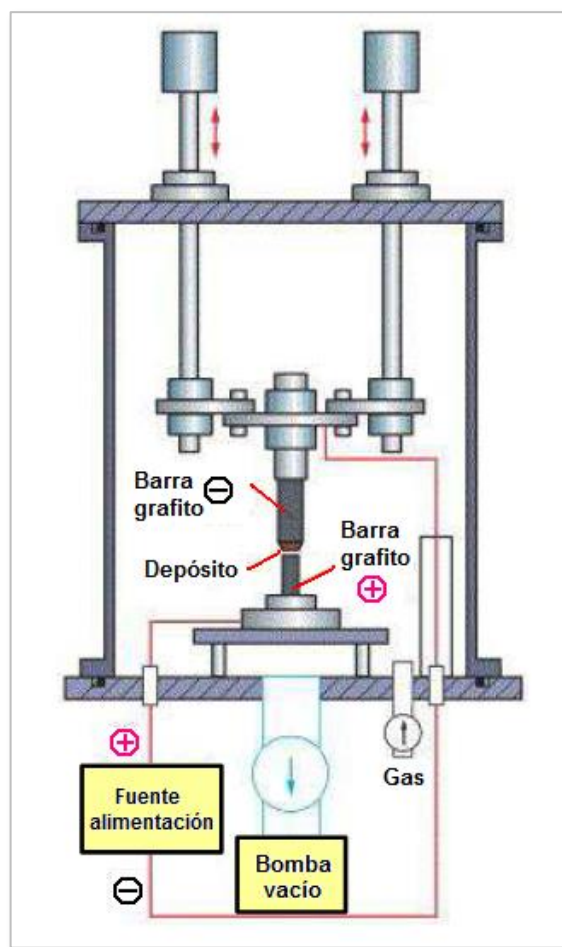


Figura 9. Dispositivo experimental empleado en la producción de nanotubos de carbono por CAD [24].

La obtención de CNTs por descarga de arco eléctrico se puede realizar por dos métodos distintos: con o sin catalizadores. La síntesis de MWCNTs, generalmente se puede realizar en ausencia de catalizadores; sin embargo para la síntesis de SWCNTs se utilizan diferentes catalizadores, siendo el ánodo un material complejo constituido por grafito y un metal como por ejemplo Gd [27], Co, Ni, Fe, Ag, Pt, Pd, etc., o mezclas como Co-Pt, Co-Ru [28], Ni-Y, Fe-Ni, Co-Ni, Co-Cu, Ni-Cu, Fe-No, Ni-Ti, Ni-Y, etc. Se ha demostrado, que la mezcla Ni-Y-grafito en el ánodo es la que produce el mayor rendimiento ($< 90 \%$) de SWCNTs con un diámetro medio de 1.4 nm, y es ampliamente utilizada hoy en día para la obtención de nanotubos de carbono monocapa [29]. Esta técnica permite producir del orden de gramos por día de material carbonoso con una alta densidad de SWCNTs mezclados con cierta cantidad de impurezas [30].

Los SWCNTs producidos por CAD suelen presentar una estrecha distribución de diámetros comprendida entre 1.2 y 1.8 nm, como demuestran los estudios de microscopía, y están siempre formados por “manojos” de nanotubos. En el caso de los MWCNTs producidos sin catalizador, su diámetro interior varía de 1 a 3 nm, el diámetro exterior de 2 a 25 nm y la longitud de los tubos no excede de 1 μm [25].

Es importante señalar que son varios los factores físicos y químicos que influyen en el proceso de descarga de arco eléctrico, y que es necesario tener presentes, ya que van a condicionar la nucleación y crecimiento de los CNTs y por tanto sus diámetros. Entre estos factores están la concentración del vapor de carbono, la temperatura en el reactor, la composición del catalizador, la adición de promotores y la presencia de hidrógeno.

Por último es preciso indicar que, frente a otros métodos, la principal ventaja del método de descarga de arco eléctrico es su capacidad y potencial para producir grandes cantidades de nanotubos. Como desventaja hay que señalar la gran cantidad de energía necesaria, el poco control sobre el alineamiento (por ejemplo quiralidad) de los nanotubos creados, así como la posterior necesidad de purificar los nanotubos obtenidos al tener que usar metales como catalizadores [5].

2.4.2. Ablación por láser

Esta técnica fue descubierta por Smally y col. en 1995 [24,31], mientras estudiaban el efecto de la incidencia del láser sobre metales. Los principios y mecanismos de esta técnica de síntesis son similares a los de la técnica de descarga de arco, pero en este caso la energía necesaria para la evaporación del carbono es proporcionada por un láser [32].

En la Figura 10 se muestra el dispositivo experimental típico para la producción de nanotubos de carbono mediante ablación por láser. En este dispositivo un rayo láser de alta potencia (tipo YAG de luz infrarroja visible y a una longitud de onda de 532 nm [25]) es dirigido hacia una barra de grafito contenida en un tubo de cuarzo y calentada en un horno a 1200 °C en una atmósfera de Ar [33]. El hollín producido por la vaporización láser, es arrastrado por una corriente de Ar desde la zona de alta temperatura hasta el final del tubo de cuarzo y depositado en un colector de cobre situado fuera del horno y refrigerado por agua.

Para la síntesis de SWCNTs, al igual que en la técnica de descarga de arco, son necesarias partículas metálicas que actúen como catalizadores [24]. Los mejores rendimientos y los SWCNTs más puros se obtienen cuando se emplean precursores de grafito mezclados uniformemente con Co y Ni (1 %), llegando a lograrse rendimientos del 80 % [12] y producciones de 80 mg al

día con una pureza entorno al 90 % [34,25]. La mayoría de impurezas obtenidas son de carbón amorfo, partículas de grafito, catalizadores y fullerenos. Además los CNTs obtenidos son más homogéneos que los producidos mediante descarga, presentan un diámetro muy uniforme y aparecen en “manojos” de cientos de SWCNTs de 5-20 nm de diámetro y de 10-100 μm de longitud [12].

Al igual que en el caso de la descarga por arco, es importante señalar que hay una serie de factores que es necesario tener en cuenta, ya que influyen tanto en la calidad como en la cantidad de material producido. Entre ellos cabe destacar: las propiedades del láser (potencia, longitud de onda, frecuencia de repetición), el tipo y presión de gas empleado, la composición química, presión y temperatura de la cámara, los metales empleados en el catalizador y la distancia entre el objetivo y los sustratos [5].

En cuanto a las ventajas e inconvenientes frente a otras técnicas, las principales ventajas de la ablación por láser son los elevados rendimientos que se llegan a alcanzar, así como el bajo contenido en impurezas metálicas, ya que los átomos metálicos involucrados tienden a evaporarse. Desafortunadamente, y como inconveniente, este método no resulta económicamente ventajoso, ya que necesita barras de grafito ultrapuras y la energía láser requerida es muy grande (en ocasiones incluso se usan dos fuentes de laser). Además, frente a la técnica de descarga por arco, la cantidad de nanotubos sintetizada por sesión no es tan alta, y el material obtenido no es un nanotubo uniforme sino que tiene algunas ramificaciones.

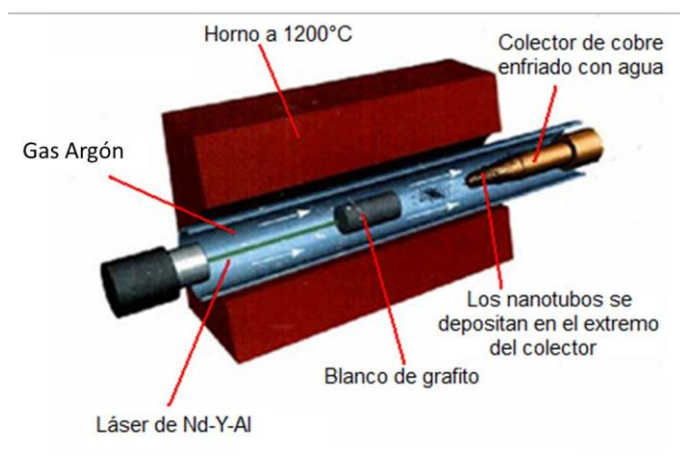


Figura 10. Dispositivo experimental empleado en la producción de nanotubos de carbono mediante ablación por láser [25].

2.4.3. Deposición química en fase vapor

Tras numerosos esfuerzos por desarrollar técnicas de producción que permitiesen obtener nanotubos con unas características predefinidas, en 1996 surge la deposición química en fase vapor (CVD), técnica considerada hoy en día como la más viable económicamente para la producción de nanotubos de carbono a gran escala [25].

Se basa en la descomposición catalítica de hidrocarburos o monóxido de carbono y la posterior deposición de esos átomos sobre un catalizador [25]. Los hidrocarburos más utilizados son acetileno, etileno, metano, y benceno.

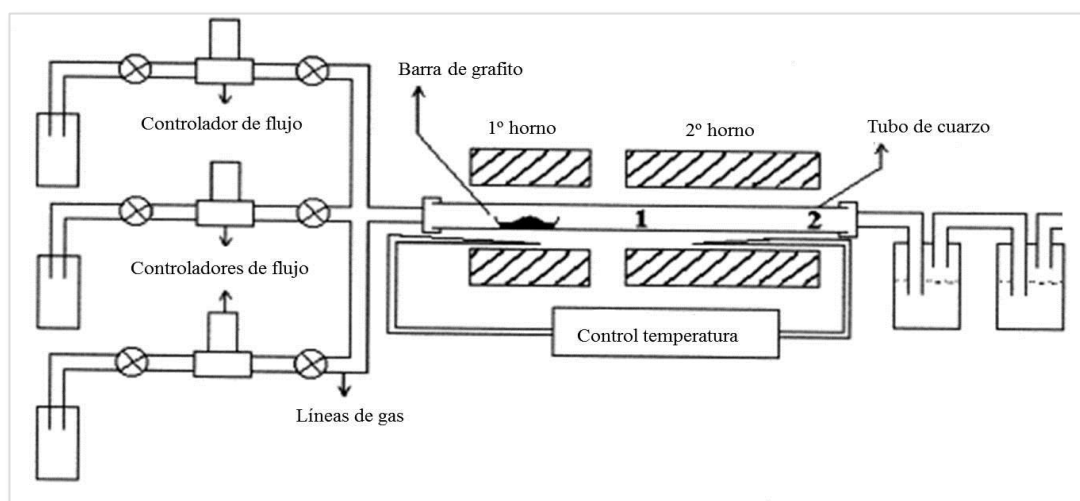


Figura 11. Dispositivo experimental empleado en la producción de nanotubos de carbono por CVD [12].

En la Figura 11 se muestra el dispositivo experimental típico empleado en la producción de nanotubos de carbono por CVD. Este proceso se lleva a cabo en un tubo de cuarzo, situado en el interior de un sistema de dos hornos y bajo condiciones de presión atmosférica. En el primer horno tiene lugar la evaporación del material carbonoso de partida y una corriente de gas (hidrógeno, nitrógeno o amoníaco) arrastra el vapor a la zona situada en el segundo horno, que está a una temperatura superior a la del primero (normalmente entre 600 y 1200 °C). En esa segunda zona es donde se encuentra el catalizador disperso sobre un soporte, y es en este punto donde se produce el crecimiento de los nanotubos. El material del soporte es generalmente silicio, pero también se utilizan vidrio y alúmina, mientras que los catalizadores son nanopartículas metálicas como Fe, Co y Ni que se pueden depositar sobre el soporte mediante evaporación, usando un haz de electrones, por bombardeo iónico o por deposición

física [24]. El catalizador usado y la preparación del soporte son los factores más importantes en esta técnica de síntesis, ya que definirán la naturaleza y el tipo de nanotubos formados. Así, mediante la variación de las partículas activas en la superficie del catalizador se puede controlar el diámetro, mientras que la longitud de los nanotubos depende del tiempo de reacción, pudiéndose obtener tubos de hasta 60 mm. Otros factores que influyen en las características de los nanotubos formados son las condiciones de trabajo (presión y temperatura) y el tipo, volumen y concentración del hidrocarburo empleado [25].

Una de las técnicas más extendidas de CVD, es el proceso HiPCO (*high pressure carbon monoxide*), donde se emplea un flujo de CO a presiones comprendidas entre 30 y 100 atm, llegando a obtenerse con estas condiciones del orden de 100 g de SWCNTs por día.

La principal ventaja de esta técnica de síntesis es que permite obtener grupos de CNTs con estructuras bien alineadas, con control posicional y con la orientación deseable de las capas [35]. Por esta razón el 83 % de los nanotubos sintetizados son producidos mediante esta técnica, seguida por el método de descarga de arco eléctrico (12 %) y finalmente la ablación por láser con un 5 % de la producción total [36]. Además, comparada con la descarga de arco eléctrico y con la ablación por láser, la producción de nanotubos mediante CVD resulta una técnica más simple y más económica ya que utiliza temperaturas y presiones atmosféricas más bajas, y los nanotubos obtenidos presentan una mayor pureza y unos rendimientos muy superiores [37].

Frente a otras técnicas su principal inconveniente es el alto grado de defectos que se producen en los CNTs obtenidos debido a la baja temperatura de síntesis empleada [38]. Como inconveniente general de todos los métodos citados, hay que indicar que cuando la técnica es transferida del laboratorio a grandes reactores, la pureza decrece y la distribución de diámetros aumenta drásticamente [37].

A continuación, en la Tabla 2 se resumen las características de las diferentes técnicas empleadas en la producción de los nanotubos de carbono junto con sus características más destacadas.

Tabla 2. Resumen de las tres técnicas más utilizadas para producir nanotubos de carbono [5,7].

TÉCNICAS DE SÍNTESIS			
	Arco Eléctrico	Ablación por láser	CVD
Descubridores	Ebbesen y Ajayan, 1992, Japón [39]	Smalley, Rice, 1995, EEUU [31]	Endo, Universidad de Shinshu, Japón [40]
Rendimiento	>75 %	>75 %	>75 %
SWCNTs	Nanotubos cortos Diámetros 1.2-1.8 nm	Largos haces de nanotubos (5-20 μ m) Diámetros 1-2 nm	Nanotubos largos Diámetros 0.6-4 nm
MWCNTs	Nanotubos cortos, Diámetro interno 1-3 nm Diámetro externo 2-25 nm	Económicamente no viable	Nanotubos largos Diámetros 10-240 nm
Cantidades	Pocos g/día	80 mg/día	100 g/día (HiPCO) 5 kg/h MWCNT
Ventajas	Método simple y no demasiado caro Produce SWCNTs y MWCNTs en grandes cantidades MWCNTs sintetizados sin catalizador Nanotubos de alta calidad	Síntesis a temperatura ambiente Elevado rendimiento Pureza relativamente alta y buena calidad SWCNTs con diámetros controlables Material homogéneo con pocos defectos	Producción a gran escala Síntesis simple Nanotubos largos Diámetro controlable Es posible el crecimiento alineado Elevada pureza
Inconvenientes	Empleo de temperaturas elevadas Elevadas impurezas Necesaria purificación Los nanotubos tienden a ser cortos y a estar enredados	Método limitado a escala de laboratorio Necesaria purificación del material bruto Técnica cara, debido al alto gasto energético	Sintetizan generalmente MWCNTs A menudo presentan defectos estructurales

2.5. PURIFICACIÓN

Es inevitable que los CNTs obtenidos por los métodos convencionales de síntesis, contengan impurezas de diferentes subproductos (fullerenos, residuos carbonosos, carbón amorfo, metales usados como catalizadores, partículas de grafito, etc.), que interfieren en la mayoría de sus propiedades, por ello, en los últimos años, se han realizado grandes esfuerzos para purificar los CNTs sintetizados [41,42].

Los fullerenos se pueden eliminar fácilmente debido a su solubilidad en determinados disolventes orgánicos. El carbón amorfo también es relativamente fácil de eliminar, debido a

su alta densidad de defectos, pudiéndose oxidar y separar en condiciones suaves. El principal problema que se presenta a la hora de la purificación de CNTs es el de eliminar las partículas de grafito y las partículas poliédricas de carbono, ya que tienen una velocidad de oxidación similar a la de los CNTs. En cuanto a las impurezas metálicas, normalmente residuos de los catalizadores, en ocasiones se encuentran encapsuladas dentro de las capas carbono, lo que las hace inaccesibles e insolubles en ácidos.

Los métodos de purificación de los nanotubos de carbono, se pueden clasificar básicamente en tres categorías: químicos, físicos y una combinación de ambos [38].

2.5.1. Métodos químicos

Los métodos químicos se basan en una oxidación selectiva, debido a que las impurezas carbonosas se oxidan más fácilmente que los CNTs, y en la disolución de las impurezas metálicas mediante el empleo de ácidos. Este tipo de métodos pueden eliminar eficazmente las partículas de carbón amorfo y las partículas de metal, a excepción de aquellas unidas a partículas de grafito poliédricas.

Las principales desventajas de estos métodos son la baja pureza, la alta tasa de destrucción del material de partida y la elevada reactividad de los CNTs al final del proceso [5]. La explicación a estas desventajas está en que los tratamientos aplicados no sólo tienden a destruir las impurezas sino que también dañan los CNTs, provocando su acortamiento, la apertura de sus extremos y, debido a la oxidación producida, cambios en su estructura, alterando las paredes laterales al introducir grupos funcionales oxigenados hidroxilo, carbonilo y carboxilo.

A pesar de esto, hay que tener en cuenta que el daño estructural es mucho menor en los nanotubos que en las impurezas dado que estas últimas tienen muchos más defectos. Además, los grupos funcionales introducidos pueden servir como base para producir modificaciones químicas en los nanomateriales y así aumentar su aplicabilidad [43].

En general, estos tratamientos pueden realizarse mediante oxidación en fase gas (usando una mezcla de aire, O_2 , Cl_2 , H_2O , HCl , etc.), oxidación en fase líquida (tratamiento ácido con HNO_3 , HCl , $KMnO_4/H_2SO_4$, etc, y/o reflujo en agua o H_2O_2) y oxidación electroquímica. La

purificación en fase gaseosa se caracteriza por la apertura de los extremos de los CNTs sin aumentar en gran medida los defectos de las paredes laterales. La oxidación en fase líquida introduce defectos y grupos funcionales en las paredes laterales de los CNTs, además de acortarlos, y por último la oxidación electroquímica sería la más conservadora sin destruir la estructura y alineación de los CNTs [38].

Estos métodos se emplean muy a menudo, con ventaja sobre otros procedimientos debido a su practicidad, simplicidad, versatilidad y capacidad de purificar grandes cantidades de nanotubos [44].

2.5.2. Métodos físicos

Los métodos físicos se basan en la separación de los CNTs de las impurezas en base a las diferencias de sus propiedades morfológicas y físicas, tales como tamaño, peso, proporción, solubilidad, propiedades magnéticas y eléctricas, etc. Se emplean en general para eliminar láminas grafiticas, nanoesferas de carbón y agregados, o para separar CNTs con diferentes relaciones diámetro/longitud.

La principal ventaja de estos métodos es que no son destructivos y, en principio, no requieren oxidación por tanto evitan daños estructurales en los CNTs. Sin embargo, son métodos complejos, menos eficaces en la eliminación de impurezas y lentos, ya que la cantidad de muestra que se puede purificar de cada vez es muy limitada. Otra característica es que la purificación normalmente se realiza en disolución, por lo que se requiere preparar las muestras para obtener una buena dispersión, recurriéndose normalmente a tensioactivos y sonicación. En base a esto, los métodos físicos son los más adecuados para su uso como etapa auxiliar combinados con la purificación química.

Las técnicas utilizadas más ampliamente en los métodos físicos de purificación son: filtración, centrifugación, cromatografía, electroforesis y recocido a alta temperatura [7,38,44-59]

2.5.3. Métodos en etapas múltiples

El tercer tipo de métodos de purificación, que combinan las ventajas de los métodos químicos y físicos, son los que se conocen como métodos en múltiples etapas. Son más efectivos en la eliminación de subproductos, conduciendo a un mayor rendimiento y a CNTs de mayor calidad. Las técnicas combinadas más efectivas son [38]:

- Extracción dinámica iniciada hidrotérmicamente.
- Microfiltración combinada con oxidación.
- Sonicación combinada con oxidación.
- Recocido a alta temperatura combinado con extracción.

Por último, es preciso señalar que además de la purificación de los CNTs obtenidos por los procedimientos de síntesis clásicos, otro campo de investigación muy activo en la actualidad es el desarrollo de nuevos procedimientos de síntesis que permitan obtener CNTs de alta calidad y elevada pureza [60] usando diferentes tecnologías [61,62] y fuentes de carbono [63,64]. Sin embargo, todavía es un desafío pendiente sintetizar CNTs de alta pureza, con un tamaño controlado (en longitud y diámetro) de manera reproducible y económica.

2.6. FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

Tal y como se ha comentado anteriormente, el uso potencial de los nanotubos de carbono está limitado por su insolubilidad en los disolventes comunes y por su tendencia a formar agregados. Mediante la funcionalización se pretende modificar la cohesión de los agregados con el fin de obtener una fina dispersión en las disoluciones o matrices seleccionadas y mejorar su reactividad [65].

Se han propuesto numerosos métodos de funcionalización de CNTs, que además de mantener o mejorar sus características, permiten su desempaquetamiento y dispersión, su mayor solubilización en diversos disolventes, propiciando una mejor interacción con otras especies moleculares, así como una mayor aplicabilidad.

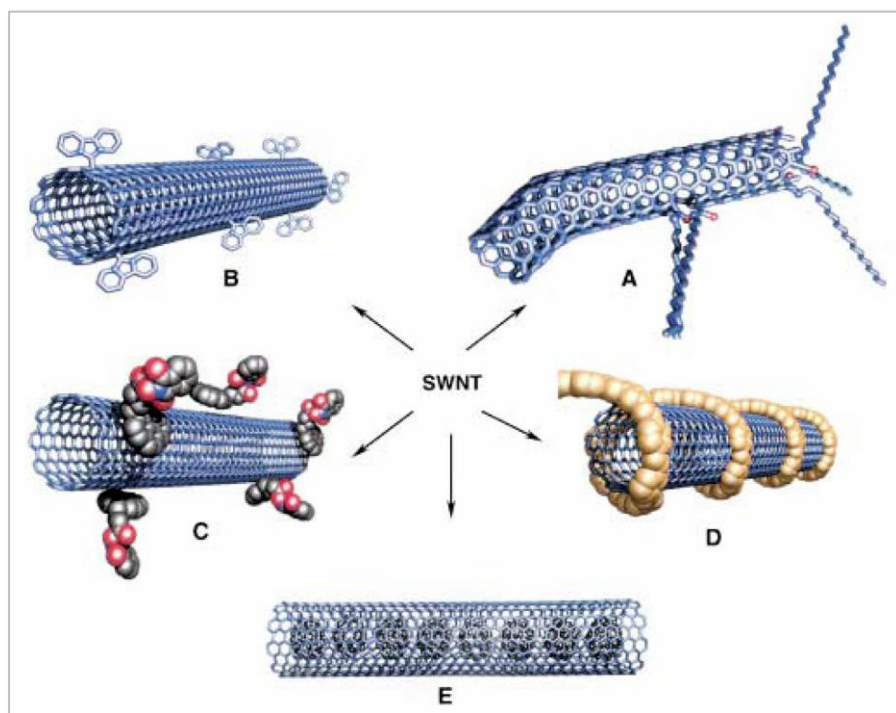


Figura 12. Procedimientos de funcionalización de los SWCNTs: A) externa a través de defectos; B) externa covalente en las paredes; C) externa no covalente con surfactantes; D) externa no covalente con polímeros; E) interna.

Los procedimientos para la funcionalización de los nanotubos de carbono se clasifican en dos tipos principales: superficiales o externas (exoédricas) e internas (endoédricas) (Figura 12) [3]. En el caso de las modificaciones superficiales estas pueden ser divididas a su vez en funcionalizaciones no covalentes y funcionalizaciones covalentes. Las principales ventajas e inconvenientes de éstos procedimientos se muestran en la Tabla 3, además una excelente revisión de los procedimientos físicos y químicos empleados con el fin de unir grupos funcionales a los CNTs fue publicada por Ma y col. [15].

Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de diversos métodos de funcionalización de CNTs [15].

Funcionalización							
	Métodos		Principio	Posible daño a los CNTs	Facilidad de uso	Reaglomeración de los CNTs en la matriz	
	Superficial	Químicos	Por enlace covalente en las paredes	Cambio de hibridación de los átomos de C de sp^2 a sp^3	✓	x	✓
			Por defectos	Transformación por defecto	✓	✓	✓
		Físicos	Por envoltura de polímero	Fuerzas de van der Waals, interacciones π - π	x	✓	x
			Por adsorción de surfactante	Adsorción física	x	✓	x
Interna			Efecto capilar	x	x	✓	

2.6.1. Funcionalización superficial

La funcionalización superficial se puede llevar a cabo por métodos químicos (funcionalización covalente, a través de defectos) o físicos (funcionalización no covalente). Los métodos químicos normalmente dañan la estructura de los CNTs y son procesos irreversibles, mientras que en los físicos, generalmente, la estructura queda intacta y el proceso es reversible.

2.6.1.1. Funcionalización química

La funcionalización química se basa en la unión de varios grupos funcionales a los extremos o a las paredes de los nanotubos mediante enlaces covalentes. De esta forma, además de mejorar la solubilidad, también es posible alterar la estructura y propiedades de los mismos, obteniéndose nuevos tipos de materiales con características útiles.

La funcionalización covalente directa de las paredes está asociada con un cambio de hibridación de sp^2 a sp^3 y a la pérdida simultánea de la conjugación de los nanotubos [3,15,65]. Este proceso puede llevarse a cabo haciendo reaccionar los CNTs con moléculas de reactividad excepcionalmente alta, como por ejemplo flúor. Los nanotubos de carbono fluorados tienen enlaces C-F débiles, proporcionando así sitios de sustitución para

funcionalizaciones adicionales [66,67]. Se han logrado con éxito reemplazos de los átomos de flúor, por grupos amino, alquilo e hidroxilo [68,69]. Además de la fluoración de la pared lateral de los CNTs existen otros métodos similares, entre los que se incluyen la cicloadición, cloración, bromación e hidrogenación.

La funcionalización a través de defectos, es otro método de funcionalización química que aprovecha la transformación química de los sitios de los CNTs con defectos. Pueden considerarse sitios defectuosos los extremos abiertos, los agujeros en las paredes laterales, las irregularidades en la estructura hexagonal del grafeno (pentágonos o heptágonos) así como los sitios oxigenados. Además, como se ha visto en el apartado 2.5 de purificación, los defectos también pueden ser creados en las paredes laterales, así como en los extremos abiertos de los CNTs mediante procesos oxidativos con ácidos fuertes tales como HNO_3 , H_2SO_4 , o una mezcla de ambos [70], y con oxidantes fuertes como KMnO_4 [71], ozono [72,73] o plasma reactivo [74,75]. Estos defectos se estabilizan mediante la unión con grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) o carboxílicos ($-\text{COOH}$). Debido a las buenas características químicas de estos grupos, se pueden llevar a cabo diferentes reacciones para producir el enlace covalente entre el nanotubo y el grupo funcional.

Los nanotubos de carbono funcionalizados de esta manera son solubles en gran variedad de disolventes orgánicos y pueden establecer enlaces fuertes con muchos polímeros, permitiendo la formación de nanocompuestos de CNTs con importantes propiedades mecánicas y funcionales [15].

Las reacciones de amidación, esterificación, silanización y tiolación producen la formación de una gran diversidad de CNTs funcionalizados con interesantes aplicaciones analíticas (Figura 13). Además, deben considerarse también otras reacciones para la producción de nanotubos funcionalizados en combinación con óxidos metálicos y polímeros. Los óxidos metálicos se pueden vincular a la superficie de los CNTs para generar materiales nanocompuestos que muestran interesantes propiedades como adsorbentes en extracción en fase sólida (SPE).

Las reacciones de injerto de polímero consisten en la unión de un polímero al nanotubo mediante un enlace covalente; esta vinculación puede tener lugar de dos maneras:

a) Carboxílico-CNT puede reaccionar directamente con polímeros altamente reactivos para producir CNT-(M)_n.

b) Carboxílico-CNT actúa como motor para iniciar la polimerización con un monómero M₁ y, en una segunda etapa, la copolimerización con un monómero M₂ produce un CNT-(M₁)_n-(M₂)_m, radical unido covalentemente al CNT (donde n y m son los grados de polimerización).

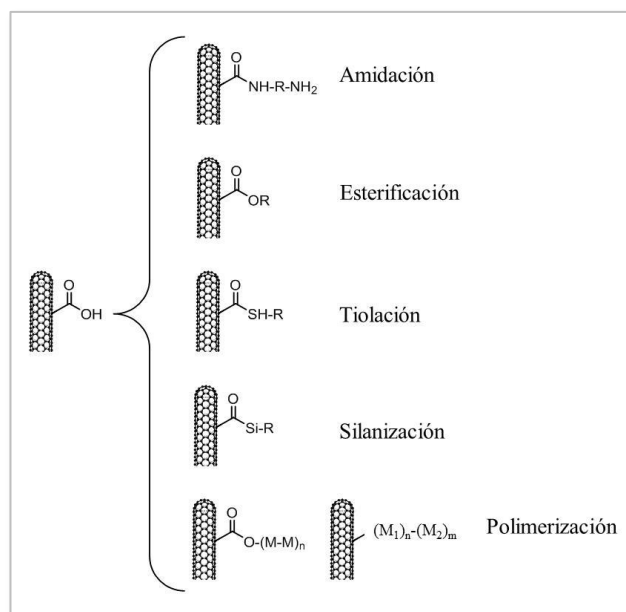


Figura 13. Esquema de las reacciones de amidación, esterificación, tiolación, silanización y polimerización.

Debido a la gran variedad de reacciones posibles basadas en las características químicas de los grupos oxigenados presentes en la superficie de los CNTs, la técnica de funcionalización química por defectos es preferible con respecto a la funcionalización de la pared lateral.

El principal inconveniente de la funcionalización de CNTs utilizando estos dos métodos (funcionalización covalente directa y funcionalización a través de defectos), es que durante la reacción de funcionalización, inevitablemente se crean un gran número de defectos en las paredes laterales llegando, en los casos más extremos, a la fragmentación de los CNTs. Esto tiene como consecuencia una degradación de las propiedades mecánicas de los nanotubos, así como la interrupción de la nube de electrones π , siendo también afectadas sus conductividades eléctrica y térmica. Otro de los problemas asociados a estos métodos es el daño medioambiental que supone el uso de oxidantes fuertes o ácidos concentrados en los procesos de purificación.

2.6.1.2. Funcionalización física

La funcionalización superficial no covalente de los CNTs puede realizarse mediante el empleo de compuestos aromáticos, agentes tensioactivos y polímeros, basándose en interacciones π - π o en interacciones hidrofóbicas. Con estos métodos las propiedades de los CNTs se mantienen al mismo tiempo que se mejora notablemente su solubilidad.

Las moléculas aromáticas, tales como pireno, porfirina y sus derivados, interactúan con las paredes laterales de los CNTs por medio de interacciones π - π , abriendo así el camino para la funcionalización no covalente. En base a este hecho, Dai y col. [76] han escrito sobre la funcionalización no covalente de las paredes laterales de los CNTs y la posterior inmovilización de moléculas biológicas con un alto control y especificidad.

Así mismo, se ha demostrado que los polímeros, especialmente los conjugados, sirven como excelentes materiales de envoltura para la funcionalización no covalente de CNTs, como resultado de las interacciones π - π y de las fuerzas de van der Waals entre las cadenas de polímeros conjugados que contienen anillos aromáticos y las superficies de los CNTs. Esta funcionalización se logra mediante la suspensión de los CNTs en presencia de polímeros tales como polifenileno vinileno (PPV) [77], o de poliestireno (PS) [78].

Los tensioactivos también se han empleado para funcionalizar CNTs, influyendo entre otras propiedades en su capacidad de dispersión. La adsorción física del agente tensioactivo sobre la superficie del nanotubo rebaja la tensión superficial del mismo, evitando la formación de agregados. Por otra parte los nanotubos de carbono tratados con surfactantes vencen la atracción de las fuerzas de van der Waals por la presencia de fuerzas electrostáticas repulsivas. La eficacia de este método depende en gran medida de las propiedades de los tensioactivos, de la química del medio y de la matriz del polímero. Entre los tensioactivos estudiados se incluyen: tensioactivos no iónicos, aniónicos y catiónicos [15]. Aunque se sabe que los tensioactivos son eficientes para la solubilización de los CNTs, resultan tóxicos para aplicaciones biológicas, por tanto el uso de estos complejos está potencialmente limitado para aplicaciones biomédicas.

2.6.2. Funcionalización interna

En este tipo de funcionalización, átomos o moléculas huésped se almacenan en la cavidad interior de los CNTs por efecto capilar. La inserción a menudo se lleva a cabo en los sitios donde hay defectos, localizados en las paredes laterales o en los extremos.

La inserción de nanopartículas inorgánicas en los nanotubos de carbono, tales como C_{60} , Ag, Au y Pt, es un ejemplo típico de funcionalización interna. También pequeñas biomoléculas, como proteínas y ADN, pueden ser atrapados en el canal hueco de los CNTs mediante simple adsorción.

La combinación de los nanotubos de carbono y moléculas huésped es particularmente útil para integrar las propiedades de ambos componentes en materiales híbridos para su uso en catálisis, almacenamiento de energía, nanotecnología y dispositivos a escala molecular [79].

2.7. CARACTERIZACIÓN DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

Desde el punto de vista analítico, M. Valcárcel define la caracterización como “la acción de establecer los aspectos diferenciales de un objeto o sistema en base a los resultados analíticos” [80].

Dado que los actuales procedimientos de síntesis de nanotubos no garantizan la homogeneidad del producto en relación con su tamaño y diámetro (y por tanto en relación a sus propiedades), y teniendo en cuenta también que la toxicidad de las partículas depende de su morfología, se han realizado numerosos estudios para la caracterización de CNTs obtenidos mediante los diferentes procedimientos de síntesis.

En la última década, se han publicado diversos trabajos de revisión, describiendo diferentes técnicas y estrategias de caracterización de nanotubos. Sin embargo, hay que señalar que ninguna de las técnicas aplicadas, por sí sola, permite una caracterización total y ninguna de ellas es totalmente cuantitativa. Las principales técnicas utilizadas para este fin se pueden clasificar en cuatro categorías: técnicas de microscopía y difracción, técnicas espectroscópicas, técnicas térmicas y técnicas de separación [81].

Además de las técnicas de caracterización citadas, la volumetría de Boehm es un procedimiento que se utiliza para la determinación de grupos oxigenados en la superficie de los CNTs, y por tanto también se describe a continuación como sistema de caracterización [82,83].

Tabla 4. Técnicas analíticas empleadas para la caracterización de nanotubos.

Microscópicas y difracción	Microscopía electrónica	SEM, TEM
	Microscopía de proximidad	AFM, STM
	Difracción de neutrones	
	Difracción de rayos X	
Técnicas espectroscópicas	Espectroscopía Raman	
	Espectroscopía de Infrarrojo	
	Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier	
	Espectroscopía UV-Vis	
	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X	
	Espectroscopía de energía dispersiva	
Técnicas térmicas	Espectrometría de emisión y absorción atómica	
	Análisis termogravimétrico	
Técnicas de separación	Cromatografía de exclusión por tamaño	
	Electroforesis capilar	
	Fraccionamiento campo-flujo	
	Ultracentrifugación	

A continuación se recoge una breve descripción del empleo de cada una de estas técnicas así como de la información que suministran.

2.7.1. Técnicas de microscopía y difracción

Para la caracterización y el análisis dimensional de los CNTs se han empleado diversas técnicas no destructivas de microscopía y difracción. Entre ellas cabe destacar diferentes tipos de microscopía electrónica tales como la microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM), dos tipos de microscopía de proximidad o de barrido por sondeo (SPM): la microscopía de fuerza atómica (AFM) y la microscopía de efecto túnel (STM); así como la difracción de neutrones (ND) y la difracción de rayos X (XRD).

Las técnicas microscópicas son las herramientas más comunes para el estudio de la morfología a nivel local, mientras que las técnicas de difracción se emplean cuando la investigación se lleva a mayor escala, con el fin de obtener una descripción media de la morfología de la muestra.

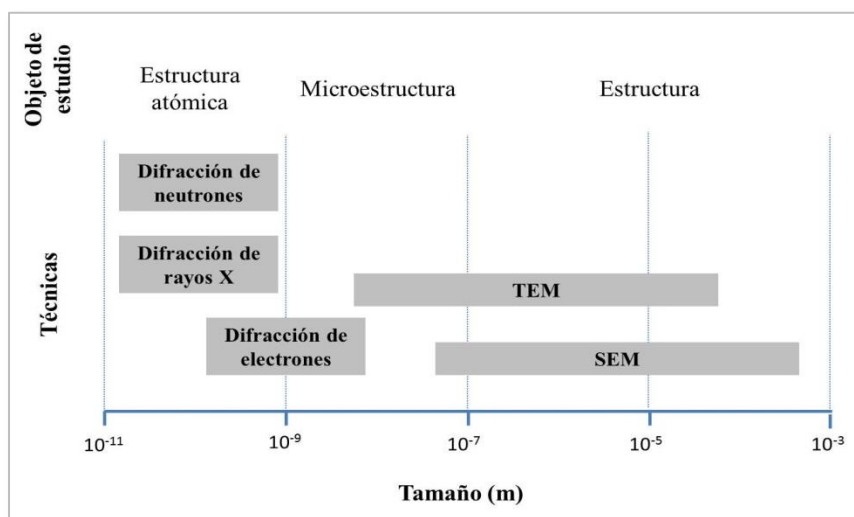


Figura 14. Esquema del grado de resolución de estas técnicas de caracterización.

- *Microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión*

La microscopía electrónica de barrido (SEM) produce imágenes mediante el escaneo de la muestra con un haz de electrones. Las imágenes obtenidas (Figura 15A) se forman porque los diferentes átomos interactúan y absorben los electrones en una magnitud variable. Esta técnica se emplea normalmente para el estudio de la morfología y la longitud de los nanotubos [84,85], para evaluar su calidad y en ciertos casos para verificar las reacciones de funcionalización realizadas en ellos [86].

Cuando las mediciones requeridas exceden la resolución de la técnica SEM (1-20 nm) se utiliza la microscopía electrónica de transmisión (TEM) [87,88]. Esta técnica produce imágenes tridimensionales reales de la superficie del objeto (Figura 15B). Para ello, se emplean electrones de alta energía (hasta 300 keV). Cuando un haz de electrones suficientemente acelerado se encuentra con una muestra convenientemente preparada, los electrones colisionan con ella, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una separación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son desviados por completo. La información que se

obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes. Usando imágenes TEM de alta resolución se pueden determinar dimensiones tales como el diámetro, y en el caso de los MWCNTs [89] el número de capas y separación entre ellas. Además esta técnica permite evaluar el proceso de funcionalización cuando éste produce la modificación de la superficie de los nanotubos [90,91].

Ambas tecnologías se han utilizado para estudiar la integridad de la estructura de los CNTs y las funcionalizaciones superficiales por defecto producidas por oxidaciones ácidas y básicas para generar grupos hidroxilo, carbonilo y carboxílicos [92].

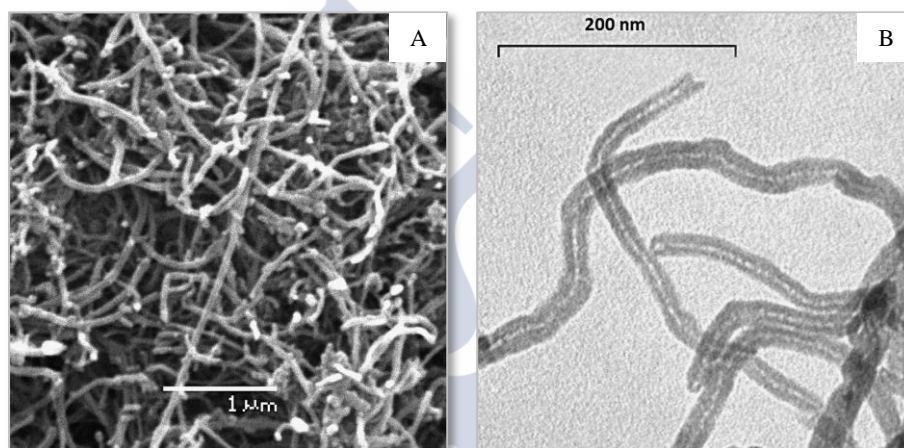


Figura 15. Imagen de una muestra de MWCNTs: A) SEM, B) TEM [81].

- *Microscopía de proximidad*

En los últimos años, las microscopías de proximidad (SPM) se han utilizado para la caracterización de nanotubos de carbono debido a que estas técnicas proporcionan imágenes topográficas superficiales de gran resolución (en el rango de 0.01-0.1nm, dependiendo de la técnica usada). Entre ellas, cabe destacar la microscopía de fuerza atómica (AFM) y la microscopía de efecto túnel (STM), que son hoy en día las dos técnicas de mayor resolución para el estudio de estructuras superficiales a nivel atómico, al permitir obtener información sobre las propiedades elásticas y electrónicas de los CNTs.

La técnica de AFM es una microscopía de muy alta resolución utilizada en la caracterización de nanotubos con una resolución inferior a 1 nm, lo que permite la obtención de micrografías tridimensionales de la superficie de los CNTs [93,94]. El microscopio de

ATM dispone de una sonda o punta afilada con forma piramidal o cónica que va acoplada a un listón o palanca muy flexible de unos 200 μm (*cantilever*), encargada de escanear la superficie de la muestra. Cuando la punta se acerca a la superficie de la muestra se produce una deflexión en el *cantilever* debido a las fuerzas que aparecen entre la punta y la muestra [95,96]. Un detector mide esta flexión que ocurre mientras la punta barre la superficie y con ello se obtiene un mapa topográfico.

La microscopía de efecto túnel (STM) está basada en el concepto de “efecto túnel”, una sonda o punta muy afilada de un metal escanea la superficie. Cuando la sonda se coloca muy cerca de la superficie y se aplica un voltaje entre la punta y la muestra, se puede obtener una imagen de la superficie a escala extremadamente pequeña, en base al paso de los electrones por “efecto túnel” a través del vacío entre la punta y la superficie del nanotubo. Si la punta se mueve a través de la muestra en el plano x-y, los cambios en la altura de la superficie y en la densidad electrónica local de estados causan cambios en la corriente que son transformados en imágenes. Esta técnica permite la obtención de micrografías de la superficie de los CNTs a nivel atómico pudiéndose así estudiar la morfología del material (resolución de hasta 0.01 nm) [97]. Por otro lado, al suministrar información sobre los estados de densidad electrónica permite la diferenciación entre CNTs metálicos y semiconductores [98,99] y establecer correlaciones entre quiralidades y propiedades electrónicas [100].

Es importante señalar que tanto AFM como STM son técnicas sofisticadas que no están fácilmente disponibles y en las cuales la preparación de la muestra es más complicada que en el caso de la microscopía de barrido (SEM).

- *Difracción de neutrones y difracción de rayos X*

Tanto la difracción de neutrones (ND) como la difracción de rayos X (XRD) son técnicas que operan a nivel macroscópico, de manera que obtienen información del conjunto de la muestra. Por esta razón, estas dos técnicas proporcionan una descripción estructural promedio de la muestra de CNTs analizada [101], en lugar de una información local de tamaños y diámetros como la que se obtiene por las técnicas de microscopía comentadas anteriormente.

La técnica de ND emplea un haz de neutrones térmicos o fríos, con el fin de obtener un patrón de difracción que proporciona información de la estructura del material, permitiendo así conocer características de los CNTs como la longitud de enlace, y en consecuencia, la posible distorsión de las superficies de carbono hexagonales. Burian y col. [102] obtuvieron mediante el uso de esta técnica información relacionada con la disposición atómica en SWCNTs y con la forma de enrollarse las capas, en el caso de los MWCNTs. Basándose en esta técnica otros autores han estudiado además la dispersión de SWCNTs en agua usando tensioactivos, con el fin de obtener la concentración óptima de tensioactivo para la dispersión de los mismos [103].

En la técnica de XRD, la muestra a analizar provoca la difracción en diferentes direcciones de un haz de rayos X. Mediante la medida de los ángulos e intensidades del patrón de difracción obtenido, se pueden determinar las posiciones medias de los átomos de la muestra y sus enlaces químicos. Por tanto el análisis de los CNTs mediante esta técnica permite obtener información sobre la estructura promedio, las correlaciones espaciales entre los átomos dentro de una capa, la naturaleza de las correlaciones entre capas y el número, diámetro, longitud y quiralidad de las capas de nanotubos [104].

2.7.2. Técnicas espectroscópicas

Se han descrito en la bibliografía diferentes técnicas espectroscópicas para la caracterización de CNTs, entre las que se incluyen: la espectroscopía Raman (RS), la espectroscopía infrarroja (IR), la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), la espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR), la espectroscopía de fluorescencia (FS), la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), la espectroscopía de energía dispersiva (EDS), y la espectrometría de emisión y de absorción atómicas.

- *Espectroscopía Raman*

La espectroscopía Raman (RS) se emplea normalmente para la caracterización y el análisis de la pureza de los CNTs, debido al carácter no destructivo y no invasivo de esta técnica [105] y a la facilidad para preparar la muestra antes de su determinación.

Las propiedades de los nanotubos pueden relacionarse con los modos de vibración de los espectros Raman, los cuales se obtienen de los fotones dispersados al someter una muestra a una fuente intensa de luz láser. Los espectros Raman de los CNTs presentan dos bandas principales (Figura 16):

- Banda G (banda de grafito), alrededor de 1500 a 1600 cm^{-1} , que se asocia con las vibraciones en los planos de las láminas de grafeno.
- Banda D (banda de defecto o desorden), observada en torno a 1300 - 1350 cm^{-1} dependiendo de la fuente de excitación, que se relaciona con los defectos en las paredes laterales de los CNTs.

Estudiando la relación entre las áreas de ambas bandas (relación D/G), se puede obtener una buena estimación del nivel de defectos en una muestra de nanotubos. Pequeños valores de esta relación significan pocos defectos en las paredes de los CNTs, sin embargo, si la muestra contiene un nivel de impurezas significativo, la relación D/G será alta indicando principalmente la presencia de residuos carbonosos en la muestra [106]. López-Lorente y col. [107] demostraron que el estado de agregación de la muestra influye en las intensidades de las bandas G y D y para evitar el efecto producido por la agregación de los CNTs, estos autores proponen un tratamiento de la muestra consistente en su dispersión usando tensioactivos. Por esta razón, la preparación y homogenización de la muestra es una etapa esencial en la caracterización mediante RS para lograr unos resultados adecuados.

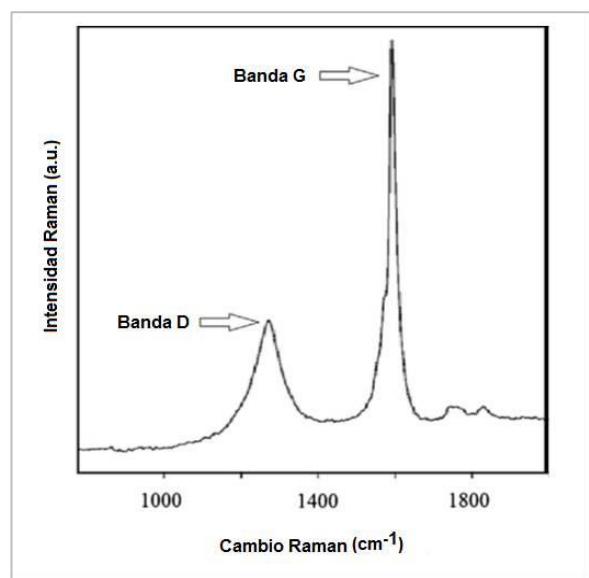


Figura 16. Espectro Raman de una muestra de SWCNTs con las bandas características D y G [81].

Además, esta técnica se ha utilizado para determinaciones estructurales y dimensionales de los CNTs, así se han publicado trabajos en los que se muestra la posibilidad de utilizar esta técnica para la determinación de la quiralidad de los nanotubos y para la determinación de su diámetro medio [108,109]. El problema de estas mediciones es que se ven fuertemente

afectadas por la energía láser utilizada. Además, a pesar de la gran cantidad de aplicaciones de la RS en la caracterización de los CNTs, cuando se requiere información individual del nanotubo, esta técnica, presenta el inconveniente de una baja resolución espacial.

- *Espectroscopía infrarroja y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier*

La espectroscopía infrarroja (IR) es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Puede decirse que el espectro IR caracteriza a una estructura molecular, de manera que dos moléculas diferentes deben mostrar espectros IR diferentes. Aunque el espectro IR caracteriza a cada compuesto, ocurre que ciertas agrupaciones atómicas dan lugar siempre a bandas en un determinado intervalo de frecuencias, independiente de la naturaleza del resto de la molécula. La existencia de estas bandas características de grupos funcionales permite que esta espectroscopía sea ampliamente utilizada en determinación estructural, para identificar compuestos o investigar la composición de una muestra. La espectroscopía por transformada de Fourier (FT-IR) es una modificación de la técnica IR que permite obtener el espectro infrarrojo con mayor resolución de los espectros y mejor sensibilidad.

La espectroscopía infrarroja ha sido empleada para evaluar las impurezas resultantes de la síntesis de los CNTs, así como la presencia de moléculas orgánicas que recubren su superficie [110]. No obstante, tanto IR como FT-IR tienen su mayor aplicación en la caracterización de los grupos funcionales unidos a las paredes de los nanotubos en los procesos de funcionalización [111]. Se determina la presencia de los grupos funcionales examinando si aparecen en el espectro las bandas IR características de cada grupo, siendo así posible demostrar si ha sido correctamente funcionalizado y el nivel de funcionalización logrado.

Las ventajas que presentan estas dos técnicas de caracterización de nanotubos son su sencillez, rapidez, bajo coste y facilidad de preparación de la muestra.

- *Espectroscopía ultravioleta-visible e infrarrojo cercano*

Las espectroscopías UV-Vis e infrarrojo cercano (NIR) han sido ampliamente utilizadas en el análisis de muestras de CNTs brutos con varios objetivos: estudiar el diámetro, quiralidad, pureza y evaluar su dispersión en agua.

La espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) se basa en el uso de radiación de la región visible y ultravioleta del espectro electromagnético, de manera que la radiación absorbida por las moléculas en estas regiones del espectro provoca transiciones electrónicas. Los electrones que se excitan al absorber radiación son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopía UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula, aunque también es una de las herramientas más útiles y empleadas en el análisis cuantitativo. La espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) emplea la región espectral del infrarrojo cercano en donde las bandas de absorción serán sobretono o combinaciones de bandas vibracionales de tensión fundamentales. Se utilizan tanto las medidas de reflexión difusa como las de transmisión.

Tian y col. [112], caracterizaron el diámetro medio y la distribución de diámetros de muestras brutas de SWCNTs obtenidas por diferentes métodos de síntesis aplicando un modelo matemático a los datos obtenidos mediante espectroscopía UV-Vis. El estudio de la quiralidad de los CNTs se basa en que sus propiedades eléctricas están directamente relacionadas con su estructura. Todos los nanotubos de carbono son activos en la región UV-Vis-NIR del espectro electromagnético y por ello, pueden mostrar tres picos de absorción principales [113] (Figura 17):

- Transiciones S_{11} y S_{22} en nanotubos semiconductores.
- Transición M_{11} en los nanotubos conductores cuando $n = m$ o $n-m = 3$.

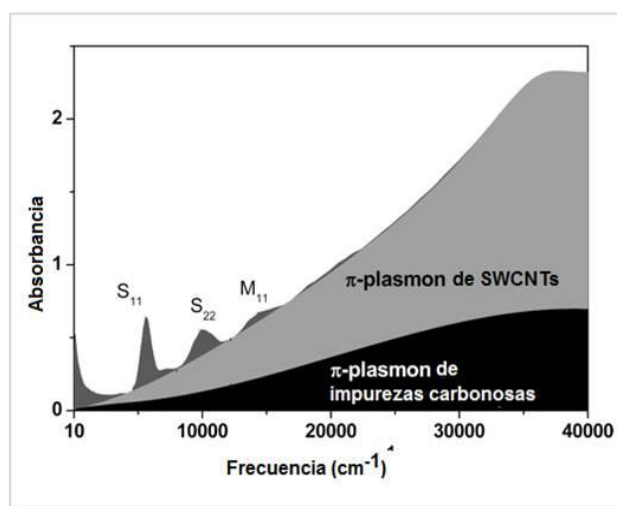


Figura 17. Espectro UV-VIS-NIR de un SWCNT mostrando las tres bandas de absorción características S_{11} , S_{22} y M_{11} [113].

Goak y col. [114] han propuesto una nueva métrica para evaluar la pureza de los SWCNTs usando la espectroscopía UV-Vis, integrando la absorción de los picos a partir de las transiciones electrónicas interbanda de nanotubos de carbono semiconductores y metálicos.

Como ya se ha indicado, los CNTs necesitan ser dispersados en agua o en otros disolventes para la mayoría de las aplicaciones, pero la concentración final en la fase líquida es siempre menor que la usada inicialmente para la preparación de la muestra. Mediante la espectroscopía UV-Vis se ha estudiado el grado de dispersión de los CNTs en la disolución final, para ello se emplea la información obtenida, siguiendo tres metodologías: i) medida de la absorbancia a una única longitud de onda, ii) medida en un rango de longitudes de onda para aplicar relaciones absorbancia/resonancia, iii) medida del espectro completo [115,116].

Por otra parte, la espectroscopía de transmisión NIR se ha utilizado para establecer la estructura de bandas electrónicas de los CNTs. En estos casos, las transiciones entre bandas, producen picos relevantes en el espectro NIR, que se han utilizado para caracterizar el tipo de SWCNT, la distribución de los diámetros, así como los efectos de dopaje [117]. La espectroscopía NIR se ha usado también como una técnica rápida y sencilla para evaluar la pureza de SWCNTs [118].

- *Espectroscopía de fluorescencia*

La espectroscopía de fluorescencia (FS) es un tipo de espectrometría que analiza la emisión de radiación fluorescente de una muestra. Se trata de utilizar un haz de radiación electromagnética, que excita los electrones de átomos o moléculas de ciertos compuestos y provoca que al volver a su estado fundamental emitan radiación.

La FS se puede usar como técnica de caracterización del nanomaterial bruto, ya que cuando los SWCNTs semiconductores se dispersan con tensioactivos en una disolución acuosa, producen una fluorescencia característica en función de su diámetro y quiralidad [119]. Esta emisión luminiscente se produce en la región del infrarrojo cercano cuando son excitados utilizando longitudes de onda visibles (en el rango de 500-900 nm) [120]. Este hecho se puede explicar debido a que la fluorescencia está directamente relacionada con la banda prohibida (*band gap*) de los nanotubos semiconductores y esta banda se ha relacionado

a su vez con la quiralidad (n, m) y el diámetro de los SWCNTs. Aunque debe señalarse que, la muestra macroscópica no va a producir fotoluminiscencia, ya que generalmente está compuesta de nanotubos metálicos y semiconductores (66 % del total) y cuando ambos tipos de nanotubos están agregados no producirán luminiscencia [121]. Por esta razón, si se quiere emplear la fluorescencia como técnica de caracterización es necesario usar tensioactivos y energía de ultrasonidos para provocar la dispersión de los nanotubos y poder medir la fluorescencia emitida por los SWCNTs semiconductores. La principal ventaja de la FS es que permite obtener una distribución cuantitativa (n, m) a través de la medida de las señales fluorimétricas. Por otro lado, el inconveniente más evidente de esta técnica es que sólo puede ser utilizada para CNTs semiconductores, ya que los nanotubos metálicos no son especies emisoras.

- *Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X*

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) es una técnica espectroscópica cuantitativa que permite determinar la composición elemental de una superficie. En XPS la muestra se irradia con un haz de rayos X y se mide la cantidad de electrones emergentes y sus energías cinéticas.

Esta técnica se ha empleado habitualmente en la caracterización de los nanotubos para estudiar las modificaciones estructurales que se producen en su superficie al funcionalizarlos mediante reacciones químicas. Algunos ejemplos concretos de trabajos que utilizan XPS como técnica de caracterización son la evaluación del grado de fluoración de MWCNTs [122], estudios de la funcionalización no covalente por inmovilización de diversas moléculas biológicas sobre la pared lateral de los CNTs [76] y estudios de dopaje de nanotubos de carbono con nitrógeno [123].

- *Espectroscopía de energía dispersiva*

En la espectroscopía de energía dispersiva (EDS), el espectro de rayos X emitido por una muestra, tras el bombardeo con un haz de electrones, se utiliza para obtener un análisis químico elemental localizado. En general, todos los elementos químicos son activos en EDS, y el análisis cualitativo (en función del pico de energía) y cuantitativo (en función de la

intensidad del pico) puede llevarse a cabo en base a las líneas de los espectros de rayos X [124].

La principal aplicación de la EDS en la caracterización de los CNTs es el análisis de la composición de nanotubos que durante la síntesis son modificados con otros elementos, como por ejemplo nanotubos de carbono rellenos de plata, oro o cloruro de oro [125], o la encapsulación de partículas de paladio en CNTs [126].

- *Espectrometría de emisión y de absorción atómicas*

Las técnicas de espectrometría atómica se han utilizado para medir los niveles de impurezas de metales en muestras de CNTs sin tratar y purificados, ya que como se ha comentado previamente, en la síntesis de los CNTs se usan metales de transición como catalizadores. Concretamente Yang y col. [127] han utilizado la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para el análisis de 26 elementos en SWCNTs y MWCNTs después de la digestión asistida por microondas de la muestra. La dificultad de la disolución de las muestras para su posterior análisis mediante ICP ha llevado al desarrollo de técnicas alternativas, como por ejemplo la espectrometría de absorción atómica con cámara de grafito aplicada a muestras sólidas (SS-GFAAS), que ha sido utilizada para la determinación de Co, Fe, Ni y Pb en una muestra preparada para utilizar como material de referencia (LV-BIO-SWCNT-1) para nanotubos preparada por el National Research Council of Canadá [128].

Se ha empleado también el análisis por activación neutrónica (NAA) como técnica de referencia para la determinación de metales catalizadores y de elementos traza contaminantes en SWCNTs [129], aunque la poca disponibilidad de esta técnica, limita su aplicación.

2.7.3. Análisis termogravimétrico

Se han aplicado varias técnicas térmicas en el desarrollo de métodos de determinación de CNTs, pero el análisis termogravimétrico (TGA) es la única empleada con fines de caracterización, resultando adecuada para la determinación cuantitativa de su pureza. La TGA se utiliza para analizar la calidad de los nanotubos tanto a macroescala como a nanoescala. Se trata de una técnica destructiva en la que se mide el peso de una muestra frente al tiempo o la temperatura mientras se somete a un programa de temperaturas en una atmósfera controlada,

proporcionando información acerca de su estabilidad térmica y una estimación cuantitativa de su pureza [130,131]. Las cantidades de carbono amorfo, metales procedentes de los catalizadores y carbono con estructura gráfica de los SWCNTs y MWCNTs, se evalúan analizando el polvo de nanotubo sin necesidad de una preparación previa especial de la muestra.

En el análisis por TGA se obtiene una curva de pérdida de peso (o su derivada) como la que se puede observar en la Figura 18, en la que hay tres parámetros que tienen particular interés:

- La temperatura de iniciación, es decir, la temperatura a la que el material empieza a descomponerse.
- La temperatura de oxidación, que se define como la temperatura a la que la pérdida de peso es máxima y se relaciona con la estabilidad térmica de la muestra.
- La masa residual, es decir, la masa que queda cuando se termina el proceso de calentamiento, que se relaciona con el catalizador metálico empleado en la síntesis de los CNTs y con los subproductos obtenidos.

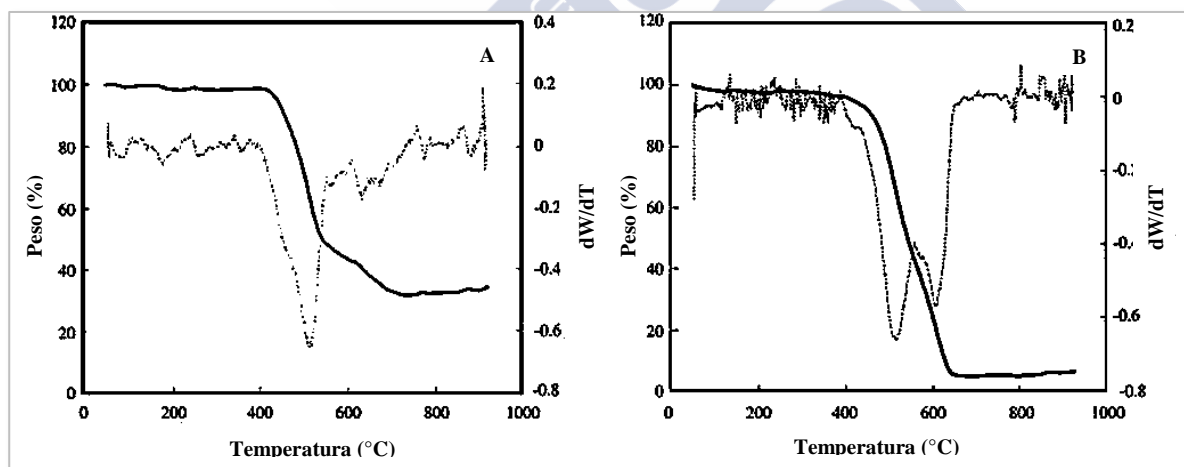


Figura 18. Gráfico TGA: A) CNTs brutos y B) CNTs tratados mediante una digestión ácida asistida por microondas [131].

En base a la información obtenida con estos tres parámetros, la técnica TGA se ha utilizado para caracterizar y comparar CNTs sintetizados mediante diferentes procesos, para estudiar la variabilidad entre lotes o dentro de un mismo lote, y para evaluar las consecuencias de los cambios ocurridos durante el proceso de purificación (en la Figura 18, se observa el cambio en la gráfica producido por el efecto de la purificación) [132]. Sin embargo, es

importante señalar que para emplear esta técnica en la caracterización de los nanotubos es necesario tener en cuenta que las temperaturas pueden estar influenciadas por el número de paredes de los CNTs, por el catalizador utilizado en la síntesis, por los defectos en la superficie de los nanotubos y por las impurezas de la muestra, tales como carbono amorfo y partículas de grafito [133].

2.7.4. Técnicas de separación

Dentro de este apartado se incluyen la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), la electroforesis capilar (CE), y otras técnicas tales como el fraccionamiento campo-flujo (FFF) y la ultracentrifugación (UC), herramientas útiles para la caracterización de las muestras brutas al separar los CNTs en función de sus diferentes morfologías y propiedades.

- *Cromatografía de exclusión por tamaño*

La cromatografía de exclusión por tamaño, también llamada cromatografía de permeación o filtración en gel, es una técnica de cromatografía líquida en la que los analitos se separan según su tamaño o según su masa molecular, por tanto, resulta una técnica eficaz para la separación de nanotubos y para la caracterización de sus dispersiones.

Las primeras aplicaciones de esta técnica en el campo de los CNTs, fueron publicadas por Tang y col. (1999) [134] para la purificación, y por Duesberg y col. (1998) [135,136] para la separación efectiva de dispersiones de MWCNTs y SWCNTs en función de su longitud. Se han caracterizado disoluciones de nanotubos solubles (obtenidas usando energía de ultrasonidos y surfactantes) empleando una columna con un tamaño de poro controlado (~300 nm) y una disolución de SDS (dodecil sulfato de sodio) del 0.25 % a pH 7 como fase móvil [137]. En un principio era necesario el uso de agentes dispersantes, sin embargo Yang y col. [138] utilizaron la técnica de SEC para la separación de SWCNTs en función de su longitud sin la necesidad de usar dispersantes. Estos autores sometieron previamente los nanotubos a un tratamiento oxidativo, posteriormente los dispersaron en agua [139] y los separaron según su longitud con una distribución relativamente estrecha. La técnica de SEC también se ha empleado en la separación de SWCNTs de acuerdo con su diferente quiralidad, los nanotubos con diferentes valores (n, m) se dispersaron en una disolución de SDS y fueron

separados usando un gel Sephacryl. La detección se realizó con un detector de fotodiodos en serie para determinar la segunda transición óptica S_{22} a 590, 650 y 720 nm [140].

- *Electroforesis capilar*

La electroforesis capilar (CE) es una técnica basada en las diferentes movilidades de las especies (en función de su relación carga/tamaño) a través de un electrolito contenido en un capilar de sílice fundida cuando se aplica un campo eléctrico. Se trata por tanto, de una técnica potencialmente útil para separar muestras brutas de CNTs en diferentes fracciones en cuanto a su relación carga/tamaño. En ella, es necesario el uso de tensioactivos (como SDS) en concentraciones por encima de la concentración micelar crítica, y un tratamiento con ultrasonidos para lograr la dispersión en medio acuoso.

La primera aplicación de CE para la caracterización de nanotubos fue publicada en el año 2002 por Doorn y col. [141], quienes demostraron la utilidad de la CE para la separación de los CNTs en función de su longitud (con mayor selectividad que las técnicas de FFF y SEC). Un año más tarde, los mismos autores [142] demostraron también la posibilidad de separar los CNTs en función de otros factores tales como diámetro o sección transversal, pero se encontraron con algunos problemas de reproducibilidad, de manera que se obtenían diferentes tiempos de retención para una misma fracción; esto se atribuyó a que se emplearon condiciones suaves durante la aplicación de la energía de ultrasonidos. Suárez y col. [143] desarrollaron un método reproducible, tanto para MWCNTs como SWCNTs, adicionando pequeñas cantidades de hidroxipropilmetilcelulosa a la disolución dispersante de SDS y al electrolito de fondo, consiguiendo un significativo aumento en la reproducibilidad.

Este tipo de técnica constituye un importante campo de investigación en el sector de los nanotubos para alcanzar dos objetivos:

- La producción de muestras de nanotubos con un estrecho rango de tamaño y diámetro.
- La obtención de nanotubos individuales aislados, con el fin de estudiar las propiedades morfológicas y electrónicas de los materiales puros.

- *Otras técnicas de separación*

Además de las técnicas mencionadas, se han desarrollado otras estrategias de separación para la caracterización de los nanotubos, como el fraccionamiento campo-flujo (FFF) y la ultracentrifugación (UC). El FFF es una técnica de separación en la cual se aplica un campo externo perpendicularmente a la dirección del flujo de la fase líquida que contiene la muestra [144]. Desde la primera aplicación del FFF para la separación de CNTs en base a su longitud [139], se han presentado otras aplicaciones que implican diferentes modificaciones de esta técnica. Chen y Selegue [145] mostraron su utilidad para la separación, en función de la longitud, de SWCNTs y MWCNTs que fueron acortados por procesos oxidativos. Moon y col. [146] realizaron la separación de nanotubos en fracciones de tamaño similar y verificaron que la separación de nanotubos mediante FFF dependía en gran medida de la naturaleza del flujo portador. Tagmatarchis y col. [147] también confirmaron la utilidad de esta técnica para la separación de MWCNTs.

La ultracentrifugación también ha sido empleada para separar nanotubos y caracterizarlos. Para el primer caso, los nanotubos se suspendieron en agua pesada (D_2O) por medio de un agente dispersante y la disolución se ultracentrifugó a más de 100000 g durante varias horas. Después de este tratamiento los SWCNTs permanecieron en el sobrenadante y fueron separados fácilmente [119]. La densidad de flotación de los nanotubos de carbono está directamente relacionada con la relación superficie/volumen y es inversamente proporcional a su diámetro. En base a esto, la ultracentrifugación en gradiente de densidad (DGU) puede ser usada para clasificar los nanotubos de carbono de acuerdo a su estructura [148]. Así, mediante DGU, se han separado con éxito SWCNTs metálicos y semiconductores con diferente quiralidad [149].

2.7.5. Volumetría Boehm

Los tratamientos de funcionalización ácida a los que se someten los nanotubos de carbono persiguen, entre otros objetivos, la carboxilación o formación de diferentes grupos oxigenados en su superficie. Estos grupos pueden ser cuantitativamente determinados por una volumetría de Boehm [83], que se basa en que estos grupos con actividad ácida presentan diferentes pK_a , se pueden determinar potenciométricamente utilizando bases de diferente fuerza. Así, mediante una valoración con NaOH, se pueden neutralizar los grupos

carboxílicos, lactónicos y fenoles, es decir se asume que neutraliza todos los ácidos de Brönsted. Mientras que empleando carbonato de sodio se valorarán los grupos carboxílicos y lactónicos, y usando hidrogeno carbonato de sodio sólo se valoraran los grupos carboxílicos. Teniendo en cuenta la diferencia de volúmenes de bases gastados entre las valoraciones consecutivas, pueden cuantificarse los diferentes grupos ácidos, y expresarse como mmol H_3O^+ /g de CNTs, lo que permitirá caracterizar los nanotubos de carbono en función de su mayor o menor funcionalización ácida [82].

2.8. APLICACIONES ANALÍTICAS DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO

En la actualidad, la investigación sobre el empleo de nuevos materiales en Química Analítica y, en concreto, sobre los nanotubos de carbono es un área de gran actividad, tal como se demuestra con la publicación de diversos artículos de revisión sobre esta materia [21,150-154].

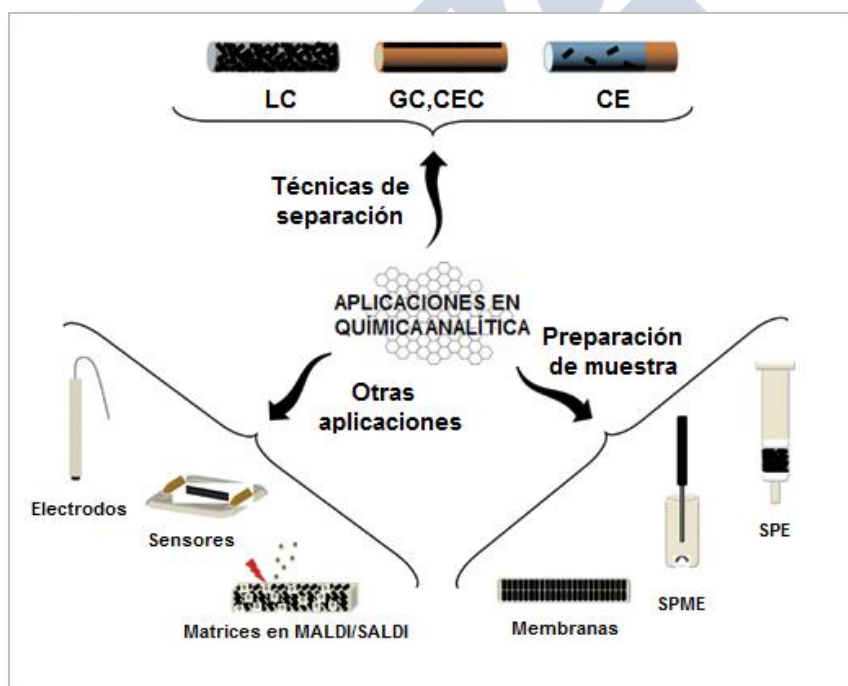


Figura 19. Principales aplicaciones de los CNTs en Química Analítica [155].

Así los CNTs se han empleado con distintas finalidades (Figura 19), tales como la fabricación de membranas y la construcción y mejora de detectores electroquímicos basándose en sus excepcionales propiedades eléctricas. Además de una amplia aplicación en

electroquímica, también se han usado extensamente en el desarrollo de técnicas de separación en base a sus propiedades adsorbentes. Así, cabe resaltar su uso como fases estacionarias en las técnicas cromatográficas cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida (LC), electrocromatografía capilar (CEC), o como fase pseudoestacionaria en electroforesis capilar (CE) al ser parte del electrolito de fondo. Otra aplicación interesante, basada también en sus propiedades adsorbentes, ha sido su uso como matrices de MALDI-TOF-MS (espectrometría de masas con desorción/ionización mediante láser asistida por matriz y detector de tiempo de vuelo de los iones) para el análisis de pequeñas moléculas. Y otro campo de aplicación muy importante ha sido el uso de nanotubos de carbono como adsorbentes para compuestos orgánicos e inorgánicos en extracción en fase sólida (SPE).

En la Tabla 5 se resumen las principales aplicaciones analíticas de los CNTs en base a sus propiedades:

Tabla 5. Aplicaciones de los CNTs combinando las propiedades generales y predominantes [152].

Propiedades generales	Propiedades predominantes de los CNTs				
	Adsorción	Estabilidad térmica	Conductividad eléctrica	Conductividad térmica	Emisor de campo
Adsorción	SPE/SPME Columna micro LC Fase pseudoestacionaria	Columna GC			
Estabilidad térmica	Sensor-PZ				
Conductividad eléctrica	Sensor de gases		Micro-electrodo Nano-electrodo		
Conductividad térmica				Intercambiador de calor	
Emisor de campo	Matrices en MALDI				Micro-plasma Fuente de rayos micro-X

2.8.1. Nanotubos usados como filtros y membranas

La filtración es un proceso importante en los procedimientos de Química Analítica; es una etapa esencial al realizar el análisis en dispositivos de micro-fluidos antes de procesar la muestra, donde la contaminación de partículas de pequeño tamaño puede causar problemas de funcionamiento [150].

Las membranas poliméricas tradicionales, utilizadas para la purificación de agua y la separación de gases, experimentan diferentes problemas como baja selectividad y permeabilidad y susceptibilidad a obstrucciones o incrustaciones. Se han investigado numerosos métodos para evitar estos inconvenientes, evaluando la posibilidad de fabricar dichas membranas con diferentes nanomateriales incluyendo zeolitas, sílice, óxidos inorgánicos, carbón, metales, compuestos organometálicos o polímeros. Recientemente se ha pensado en el empleo de los nanotubos de carbono para este fin debido a sus características únicas de transporte y selectividad. Los núcleos interiores de los nanotubos de carbono permiten un control preciso de la dimensión de los poros en escala nanométrica. Por otra parte, la velocidad de transporte de gases y de moléculas de agua a través de los CNTs es de uno o dos órdenes de magnitud mayor que a través de los poros de zeolita o de cualquier otro material microporoso. Este fenómeno ha sido explicado por las características de sus paredes lisas y sin defectos que llevan a que la fricción sea extremadamente baja. Recientemente, se han fabricado con éxito membranas en las cuales se han incorporado CNTs en la película de un polímero; obteniéndose mallas con poros del orden de 10 a 50 nm, con una relación superficie-volumen superior a las de las membranas empaquetadas convencionales. Además este tipo de membranas presentan la ventaja adicional de poder modificar su superficie con polímeros que incorporan una funcionalidad particular. Sin embargo, hay que tener en cuenta, que han surgido muchos problemas con este enfoque y todavía es un reto importante el conseguir alinear un gran número de CNTs y preparar una estructura de membrana robusta con dimensiones en escala nanométrica bien controladas [151]. Por ello, se están planteando caminos alternativos para fabricar membranas, como por ejemplo mediante el crecimiento por CVD de CNTs en el interior de una plantilla de una membrana de alúmina nanoporosa (PA) [156] (Figura 20).

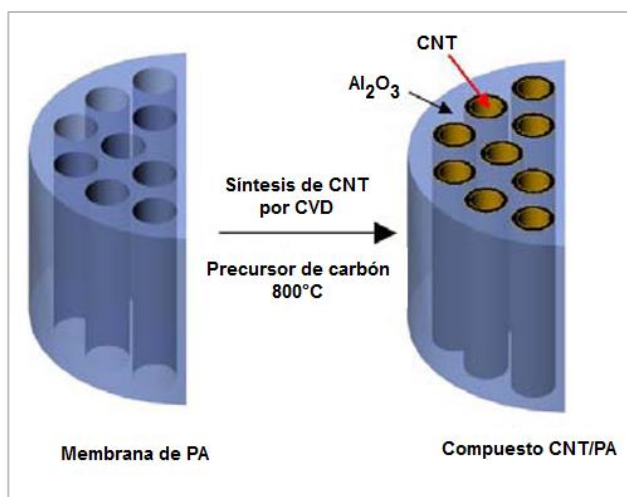


Figura 20. Esquema de la fabricación de una membrana compuesta de CNT/PA [156].

Ajayan y col. [157] desarrollaron un sistema basado en cilindros monolíticos huecos, con diámetros y longitudes de hasta varios centímetros, constituidos por paredes de nanotubos alineados radialmente; aplicándolos en la eliminación de múltiples componentes de hidrocarburos pesados en petróleo y en la eliminación de contaminantes bacterianos, como *Escherichia coli* o poliovirus de tamaño nanométrico.

Murthy y col. [158] han descrito la preparación, caracterización y aplicación de una membrana formada por quitosano-MWCNTs para la separación de iones metálicos. Los nanotubos fueron funcionalizados con quitosano para aumentar su hidrofobicidad y la capacidad de rechazo de la membrana, que se usó para separar sodio y magnesio en disoluciones acuosas, siendo la secuencia de retención de las sales $\text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{NaCl}$.

2.8.2. Usos de los CNTs basados en sus propiedades eléctricas

Existen un gran número de aplicaciones en la bibliografía sobre el empleo de los nanotubos de carbono como electrodos o de electrodos convencionales modificados con CNTs. Esta aplicación de los nanotubos está justificada por sus importantes aportaciones en las medidas electroquímicas tales como su gran superficie activa en electrodos de pequeñas dimensiones, su mejor transferencia de electrones o sus propiedades electrocatalíticas [21]. Es sabido que la electroactividad de los CNTs es debida a la presencia de grupos reactivos de defectos en su superficie y en los extremos de los nanotubos, pero además, recientemente se ha descubierto que los CNTs pueden transportar carga a grandes distancias a temperatura ambiente, lo que hace que se puedan utilizar para transportar densidades de corriente mayores que las transportadas por un alambre de cobre del mismo diámetro [159]. Como resultado de todo ello, los CNTs son un material ideal para la modificación de los electrodos, al ser capaces de exhibir sobrevoltajes menores y corrientes de pico mayores que los electrodos no modificados [160].

La fabricación y modificación de electrodos basados en el empleo de los CNTs ha sido ampliamente estudiada y aplicada a la determinación de un gran número de analitos, como por ejemplo, H_2O_2 , dopamina, auxina, etc. en diferentes matrices [21]. Por otro lado, debido a la gran capacidad de adsorción de los nanotubos se han desarrollado un gran número de métodos basados en la voltametría y potenciometría de redisolución anódica para la determinación de

compuestos orgánicos y metales de transición. Hay que tener en cuenta que, a la sensibilidad lograda en las técnicas voltamétricas, se le une una efectiva acumulación/preconcentración del analito, lo que provoca una relación señal/ruido considerablemente favorable, haciendo que estas técnicas sean extremadamente sensibles [159].

También se han construido un gran número de biosensores empleando CNTs [152]. Un biosensor es un dispositivo constituido por una capa de biorreconocimiento del analito, y un transductor que es el responsable de la conversión del biorreconocimiento en una señal eléctrica. Las enzimas, antígenos, anticuerpos, ácidos nucleicos, etc., han sido usados como elementos de biorreconocimiento [160]. Para el proceso de transducción electroquímica es muy importante la naturaleza del electrodo y en este sentido, los CNTs, representan una importante alternativa debido a sus excelentes propiedades eléctricas [153]. La transferencia de electrones en el proceso de detección puede hacerse directamente en el nanotubo o en materiales tipo polímeros-CNTs, en CNTs-nanopartículas metálicas, y otros CNTs-compuestos (incluyendo compuestos biológicos) [155]. Existen excelentes revisiones sobre estas aplicaciones realizadas por Rivas y col. [160], Agüi y col. [161], Merkoçi [150] y Primo y col. [162].

Los CNTs también se han empleado para desarrollar sensores químicos. El uso de nanotubos de carbono en los sensores de gases se basa en cambios en las propiedades eléctricas de estos materiales (conductividad, constante dieléctrica e impedancia) en función de la composición química de la atmósfera que los rodea [163,164]. La conductividad eléctrica de un SWCNT semiconductor es altamente sensible al cambio de la composición química de la atmósfera a temperatura ambiente. Esto es debido a transferencias de carga entre los nanotubos y las moléculas de los gases adsorbidos sobre su superficie. Además, se ha observado que las adsorciones son reversibles y que existe una respuesta lineal entre la concentración de los gases y las diferencias en las propiedades eléctricas del nanotubo. Basándose en este hecho, se han desarrollado sensores químicos en miniatura para detectar pequeñas concentraciones de gases a temperatura ambiente con muy alta sensibilidad. Además, los CNTs modificados química y físicamente pueden ser útiles en la construcción de sensores químicos muy selectivos y sensibles. Por ejemplo, los nanotubos semiconductores, recubiertos con una capa fina de paladio metálico, son extremadamente sensibles para detectar hidrógeno molecular [152]; mientras que, recubriéndolos con polietilenimina, se ha detectado

NO₂ sin interferencia del NH₃, y con un recubrimiento de Nafion, se observa una señal selectiva de NH₃ [21,152].

2.8.3. Usos de los CNTs basados en sus propiedades de adsorción

La conocida capacidad de los nanotubos de carbono de establecer interacciones electrostáticas π - π y su gran área superficial, pueden facilitar la adsorción de analitos de una manera selectiva y reproducible. Esta capacidad ha sido usada, desde el punto de vista analítico, con tres objetivos:

- a) Obtener fases estacionarias o pseudoestacionarias para separar analitos.
- b) Desarrollar sistemas de detección piezoeléctricos para analitos volátiles.
- c) Actuar como material adsorbente en sistemas de extracción en fase sólida.

2.8.3.1. CNTs usados en las técnicas de separación

Los nanotubos de carbono se han usado como fase estacionaria en cromatografía debido a dos factores, su capacidad de establecer fuertes interacciones π - π con compuestos aromáticos y compuestos insaturados y su alta estabilidad térmica.

La estabilidad térmica de los CNTs es lo que los convierte en una alternativa atractiva para ser usados como fase estacionaria en la cromatografía gas-sólido. Por otro lado, sus propiedades de adsorción únicas los hacen susceptibles de ser aplicados en cromatografía líquida y en electroforesis capilar, obteniéndose una resolución muy mejorada y aumentándose la relación señal/ruido [165-167]. Además sus excelentes características a escala nanométrica, los hacen candidatos ideales para su empleo en microdispositivos para el análisis en fases gaseosa y líquida. En el análisis en fase gaseosa, se puede implementar un micro-concentrador o una trampa de micro-sorbente, para ser utilizados en cromatografía en línea y en aplicaciones de detección [168].

2.8.3.1.1. Empleo de los CNTs en cromatografía

En los últimos años, las técnicas de separación han avanzado al surgir una nueva generación de fases estacionarias a base de nanotubos de carbono. Los nanotubos se han estudiado como medio de separación cromatográfica debido a sus excelentes propiedades:

geometría única, estabilidad química, rápida transferencia de masa y alta relación superficie/volumen. En este contexto, la principal ventaja de los CNTs es la ausencia de resistencia a la transferencia de masa, debido a su naturaleza no porosa. Por otro lado, su alta relación superficie/volumen conlleva una gran capacidad de adsorción específica, mejor que la obtenida en una superficie plana de carbono. Además los puntos de adsorción, localizados en la pared y en los espacios intersticiales entre los nanotubos, son fácilmente accesibles permitiendo una rápida adsorción y desorción. Otra característica importante, es que los CNTs sin tratar son estables hasta 1200 °C bajo atmósferas inertes, lo que permite trabajar a temperaturas más altas que con columnas convencionales [169].

En cromatografía de gases, además de las columnas empaquetadas, también han sido utilizadas columnas capilares tubulares abiertas, que presentan una mejor eficiencia y una distribución más uniforme de la fase estacionaria que las primeras. Para conseguir este propósito, se realiza la inmovilización de los CNTs en las paredes internas de la columna capilar, al depositar una película de nanotubos por CVD [170]. Con este autoensamblaje *in situ* de los nanotubos se logra que sus nano-características perduren, mientras que, cuando los nanotubos son empaquetados como polvo, se pueden perder debido a su aglomeración [171]. Al mismo tiempo, se consigue que se comporten como un sistema cromatográfico clásico de alta resolución. Otra ventaja de estas columnas, es que el grosor de la película de CNTs y su morfología pueden ser hechos a medida, al variar el precursor CVD, las condiciones de catálisis y la funcionalización química. Así por ejemplo, han sido fabricadas microcolumnas con una buena resolución, usando SWCNTs como fase estacionaria para separar hidrocarburos.

Se han empleado como fase estacionaria CNTs purificados y funcionalizados. Aunque se ha concluido que los nanotubos de

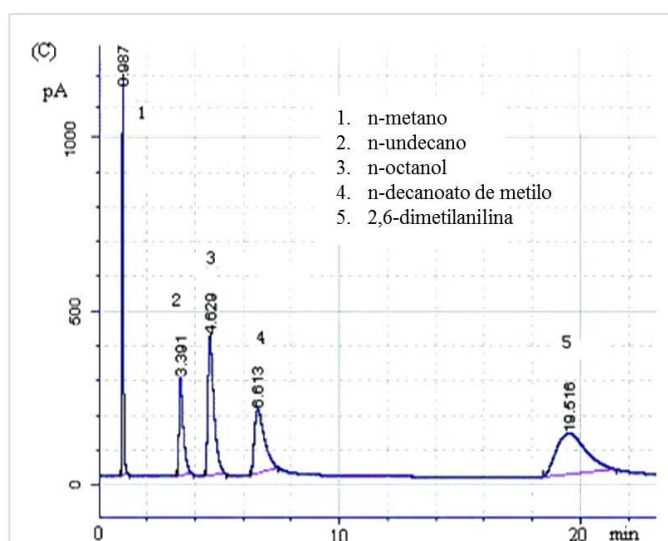


Figura 21. Cromatograma GC obtenido en una columna capilar con SWCNTs. Temperatura de la columna 110 °C, velocidad lineal 19.2 cm s⁻¹ [172].

carbón brutos deben estar purificados, ya que los procedentes del proceso de síntesis contienen carbón amorfo y metales pesados, que pueden afectar al comportamiento de retención de la fase estacionaria. Los metales pesados por ejemplo afectan en gran medida a las propiedades de la superficie (características aceptor/donador principalmente), mientras que el carbón amorfo provoca picos con colas [169]. En la Figura 21 se puede observar la separación de diferentes compuestos en un cromatograma GC empleando una columna capilar con SWCNTs [172].

La funcionalización de los CNTs ha permitido ajustar la afinidad y selectividad de la técnica para separar un amplio rango de solutos. Por ejemplo, en la determinación de alcoholes y ésteres empleando MWCNT-R-NH₂ como fase estacionaria, se ha conseguido retener selectivamente los alcoholes de acuerdo a su estructura química (lineal o ramificada) y de acuerdo con sus propiedades físico-químicas, obteniéndose unas mejores características analíticas que si no se funcionalizasen. Además hay que señalar que los nanotubos funcionalizados muestran una transferencia de masa más rápida, característica a remarcar puesto que la resistencia a la transferencia de masa es la causa de la existencia de picos anchos. Adicionalmente debe indicarse que el intervalo de temperaturas de trabajo de los CNTs funcionalizados está limitado por la estabilidad térmica de muchos grupos funcionales, siendo aconsejables temperaturas menores a 120-150 °C para evitar la pérdida de estos [170].

A pesar de que la cromatografía líquida es la técnica más útil para compuestos no volátiles, el uso de CNTs como fase estacionaria en este tipo de cromatografía ha sido poco estudiado. En este caso, los nanotubos pueden usarse para rellenar columnas analíticas convencionales, pero debido a la alta sobrepresión que se ejercería al hacer pasar el eluyente a través de una fase nanométrica, se recomienda unir los CNTs a materiales cromatográficos con dimensiones micrométricas. Se han seguido varias rutas para preparar las fases estacionarias para LC basadas en nanotubos de carbono [173] que normalmente se han inmovilizado sobre un polímero monolítico orgánico o sobre un soporte de sílice [174].

Los SWCNTs se incorporaron por primera vez sobre una fase estacionaria monolítica formada por un polímero orgánico, para emplearlos en HPLC (cromatografía líquida de alta resolución). El análisis de los datos cromatográficos obtenidos con esta fase estacionaria reveló que este tipo de nanotubos aumenta la retención de pequeñas moléculas y la selectividad hacia moléculas polares debido a la interacción hidrofóbica entre los SWCNTs y

los analitos, y la influencia de las características de la estructura, tamaño, y carga de los nanotubos en la adsorción y partición del analito [170,175].

Cuando los CNTs se inmovilizan sobre una fase estacionaria de sílice, normalmente se emplea una inmovilización covalente, basada en una funcionalización previa del nanotubo (con grupos amino o por fluorización); Zhang y col. han estudiado las diferentes formas de lograr esta unión [175]. En estos casos, los nanotubos le aportan a las microesferas de sílice una afinidad y selectividad específicas, ausente en las columnas de referencia hechas de sílica gel funcionalizada con aminopropil.

Como se refleja el artículo de Yoo y col. [176], las duras condiciones empleadas para funcionalizar los nanotubos provocan una fuerte modificación de su estructura sp^2 , que degrada sus propiedades intrínsecas, por ello se han planteado métodos de funcionalización no destructivos, como la inmovilización no covalente. Empleando fases estacionarias con CNTs funcionalizados no covalentemente para la separación de PAHs se observó, que aunque la interacción estaba gobernada por enlaces π - π , la retención está muy influenciada por la forma molecular de los compuestos [176]. Cuando se empleó este tipo de fase estacionaria en la separación de varios compuestos aromáticos, se observó que la eficacia de la separación era mayor que en una columna de C_{18} , sin pérdida de resolución aun a velocidades de flujo tan altas como 8.5 mL min^{-1} [174].

Es evidente que las fases estacionarias basadas en CNTs se comportan como un adsorbente en fase reversa, mostrando además de las simples interacciones de afinidad hidrofóbica, unas interacciones específicas que les ofrecen una selectividad extra para futuras aplicaciones (interacciones electrostáticas, interacciones π - π , fuerzas de dispersión, efecto hidrofóbico, etc.) [177]. Aunque, hasta la actualidad, hay pocos estudios sistemáticos para entender la afinidad de un compuesto hacia los CNTs en cromatografía líquida [170,173,174,176,178-180].

Es conveniente indicar que este tipo de fases estacionarias con empleo de nanotubos de carbono tiene un potencial campo de aplicación en la separación de biomoléculas, no sólo empleando la LC como técnica analítica, sino también para desarrollar procesos de cribado simples estudiando la interacción entre los CNTs y biomoléculas pequeñas y medianas en medios acuosos [170].

2.8.3.1.2. Empleo de CNTs en electroforesis capilar, electrocromatografía capilar y cromatografía electrocinética capilar.

Los nanotubos de carbono se han utilizado como fase estacionaria en electrocromatografía capilar (CEC) como fase pseudoestacionaria en cromatografía electrocinética capilar (EKC) y como componentes del electrolito de fondo en electroforesis capilar (CE).

Las separaciones por electromigración utilizan capilares de diámetro interno reducido y la aplicación de campos eléctricos elevados. Este tipo de separaciones, pueden obtenerse al utilizar técnicas electroforéticas en las cuales los mecanismos de separación se basan exclusivamente en la migración diferencial de analitos iónicos o ionizables, como la electroforesis capilar y por medio de técnicas que incluyen una combinación de principios electroforéticos y cromatográficos, denominadas técnicas de electro-cromatografía, en las cuales los analitos neutros también pueden ser separados. Las técnicas electrocromatográficas se pueden dividir según si emplean fases estacionarias reales, como la electrocromatografía capilar (CEC) o la electrocromatografía planar (PCE) y aquellas que utilizan fases pseudoestacionarias (PSP), como la cromatografía electrocinética capilar (EKC) [181].

Electrocromatografía capilar (CEC). En la actualidad, la aplicación de nanomateriales de carbono en CEC se centra casi exclusivamente en el uso de CNTs, que han sido empleados como fase estacionaria al incorporarlos a un bloque orgánico monolítico, o a capilares de sílice fundida; ya sea uniéndolos mediante un enlace covalente o mediante adsorción iónica, usando en unos casos SWCNTs y en otros MWCNTs.

La idea principal de combinar la fase estacionaria con los CNTs es modificar las paredes de los capilares para mejorar su interacción con el analito bajo un campo eléctrico [150]. Por ejemplo, en la separación de una mezcla de péptidos, se encontró que la capacidad de retención, la eficacia de la separación y la simetría de los picos, eran superiores en una columna con SWCNTs incorporados a una fase estacionaria orgánica monolítica, que los encontrados en la misma columna sin nanotubos. El papel jugado por los nanomateriales se reflejó en el diferente orden de migración observado en los dos capilares [170]. La interacción entre el soluto y la pared capilar modificada puede ocurrir por dos mecanismos: interacciones

iónicas con las cargas de los CNTs y/o a través de interacciones hidrofóbicas entre el anillo bencénico y la superficie de los nanotubos [150].

Se ha observado, que la presencia de impurezas metálicas desaceleraba ligeramente el flujo electroosmótico, por lo que el tratamiento previo con HCl para eliminar las especies metálicas puede ser una etapa necesaria en la aplicación de la CEC basada en CNTs. También se ha comprobado que la falta de selectividad y eficacia está fuertemente influenciada por los grupos funcionales disponibles en las paredes del capilar [170]. A modo de ejemplo de estas aplicaciones en la Figura 22 se presenta un electroferograma en el que mediante SWCNTs modificados con carboxilato se separan diferentes esteroides [182].

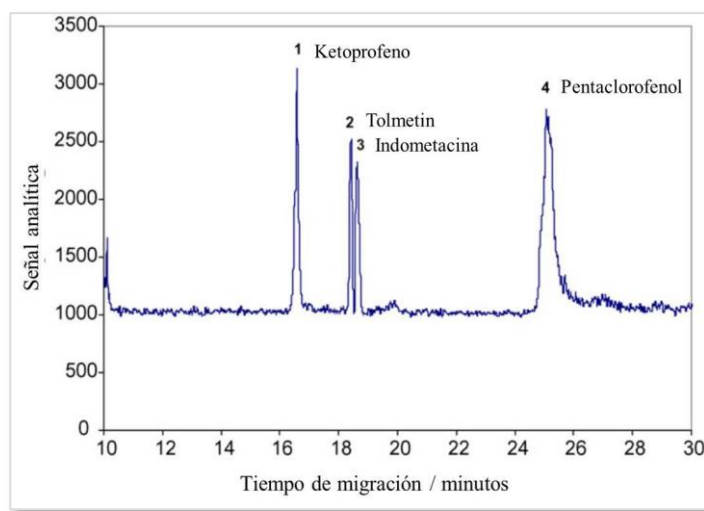


Figura 22. Electroferograma de una muestra de orina con esteroides extraídos con SWCNTs modificados con carboxilato. [182].

Cromatografía electrocinética capilar (EKC). La EKC es una técnica de separación ampliamente aceptada. Este modo de electroforesis se basa en dos efectos: las diferencias en los coeficientes de partición de analitos entre una fase pseudoestacionaria (PSP) y el electrolito de fondo (BGE); y las diferencias en las velocidades de migración de los analitos libres y los analitos que interactúan con la PSP bajo la influencia de un campo eléctrico. Por ese motivo, la naturaleza de la fase pseudoestacionaria tiene una influencia clara en la separación. Al principio la aplicación de esta técnica se llevaba a cabo en presencia de micelas (cromatografía electrocinética capilar micelar, MEKC) o de microemulsiones de gotas de aceite recubiertas de un surfactante (cromatografía electrocinética capilar en microemulsión, MEEKC) al añadir tensioactivos al tampón. Los nanotubos de carbono también han sido utilizados como fase pseudoestacionaria en este tipo de técnica ya que al añadir nanopartículas al tampón, tiene el mismo efecto que usar micelas aditivas en MEKC, al proporcionar sitios para que los analitos interactúen [183].

Como en general los CNTs son insolubles en la mayoría de los disolventes, con el fin de producir fases pseudoestacionarias en EKC, los nanotubos de carbono suelen ser solubilizados por funcionalización o por interacciones hidrofóbicas con surfactantes, polímeros, polisacáridos o proteínas. Cuando se añade un nanotubo de carbono funcionalizado a un electrolito de fondo, se produce una fase pseudoestacionaria, la cual puede interactuar y/o adsorber analitos a través de diferentes procesos: a) interactuar con los poros del CNT, b) interactuar con los grupos polares o c) a través de interacciones hidrofóbicas. De esta forma, los nanotubos de carbono funcionalizados, permitirían, por ejemplo, mejorar la forma de los picos de homólogos e isómeros estructurales de la cafeína y la teobromina, aumentar la separación electroforética de bases nitrogenadas (purina y pirimidina) o alterar la resolución de los fragmentos de ADN [183].

Usando moléculas de tensioactivos, polisacáridos o proteínas también se puede lograr la solubilización no covalente de los CNTs a través de interacciones hidrófobas. El uso de esta fase pseudoestacionaria permite la separación y resolución de los compuestos debido a tres procesos: a) interacción con la cadena hidrocarbonada del surfactante, b) interacción con la superficie micelar o grupos polares del surfactante, c) adsorción en la superficie de los nanotubos. Se ha comprobado que los SWCNTs recubiertos con tensioactivos pueden mejorar la resolución de compuestos aromáticos como resultado de la interacción adicional entre los analitos y la superficie de los nanotubos de carbono [171]. En la Tabla 6 se pueden observar diferentes usos de nanopartículas de carbono como fase pseudoestacionaria en EKC [183].

Tabla 6. Usos de nanopartículas de carbono como fase pseudoestacionaria en EKC [183].

	Tipo de nanopartícula	Analito
CNTs funcionalizados	c*-SWCNT	Cafeína y teobromina
	c*-MWCNT	Purina y pirimidina
	c*-MWCNT	Fragmentos de ADN
CNTs recubiertos	SWCNTs-con surfactantes	Clorofenoles, antiinflamatorios y penicilinas
	MWCNTs-con surfactantes	Enantiómeros de efedrina
	Fullereno C60-con surfactantes	PAHs
	Fullereno C60-con surfactantes	Antibióticos, antiinflamatorios, anfenicoles

*c: carboxílico

2.8.3.2. CNTs usados en sistemas de detección piezoeléctricos

La capacidad de adsorción de los CNTs también puede usarse para la detección piezoeléctrica de analitos volátiles. El principio de operación de una microbalanza con sensor de cuarzo (QCM) está basado en la interacción entre la superficie del cristal de cuarzo recubierto con una película sensible y el analito. Si se asume para el cristal un comportamiento de película rígida, el cambio en la frecuencia de resonancia es función del cambio de la masa en la superficie [184]. La selectividad y eficacia de la adsorción de vapores y gases está regulada por la composición y la estructura de los recubrimientos de los sensores piezoeléctricos. Los CNTs están caracterizados por su alta porosidad y buena permeabilidad a los gases y no cambian sus propiedades a lo largo del tiempo [185]. En base a esto, usando MWCNTs anclados en la película adsorbente, se han detectado alquilaminas [186] y amoníaco en aire [187], vapores de alcoholes alifáticos y compuestos aromáticos [185].

2.8.3.3. CNTs usados en MALDI-TOF-MS

La espectrometría de masas con ionización MALDI-TOF, es un método simple e indispensable para una amplia gama de analitos, incluyendo biomoléculas y polímeros sintéticos. Empleando la técnica MALDI tradicional se requieren matrices orgánicas convencionales, tales como 2,5-dihidroxibenzoico, para absorber la energía del láser y formar sólidos microcristalinos homogéneos con los analitos para inducir su ionización. Sin embargo, estas matrices orgánicas siempre se rompen bajo la radiación láser y producen interferencias de iones de la matriz no deseados en las regiones de bajo peso molecular (<500 Da), resultando difícil el análisis de pequeñas moléculas si se usan matrices orgánicas convencionales. Es interesante usar como matrices, el grafeno y los nanotubos de carbono, ya que pueden ofrecer alta eficiencia para absorber la energía UV del láser y transferirla al analito, sufriendo éste a la vez una desorción/ionización. Además debido a su gran capacidad de adsorción, estos materiales permiten el enriquecimiento de pequeñas moléculas [188]. Este tipo de matrices se han empleado con éxito para el análisis de ciclodextrinas, pequeños péptidos, y mezclas de compuestos orgánicos [152]. Cegloski y col. han hecho un interesante resumen de las aplicaciones de los nanotubos de carbono funcionalizados con MALDI-TOF-MS [189].

2.8.3.4. CNTs usados como adsorbente en extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida (SPE) es uno de los métodos de preparación de muestra más empleados para preconcentrar analitos en diferentes matrices, debido a ventajas como su alto factor de enriquecimiento, alta recuperación, rápida separación de fases, bajo coste, bajo consumo de disolventes orgánicos y su capacidad de acoplarse con diferentes técnicas de detección ya sea en línea (*on-line*) o en discontinuo (*off-line*). Cuando se emplea la SPE, las dos claves para lograr un proceso eficiente son: la selección de la técnica SPE más adecuada y la selección del adsorbente más apropiado.

Con respecto al adsorbente, se han empleado gran variedad de materiales tales como resinas sintéticas y sus derivados, carbono y sustratos biológicos (bacterias, algas y hongos libres o inmovilizados en un soporte sólido). Las características más importantes que debe reunir un adsorbente son: estabilidad, capacidad de regeneración, alta capacidad de adsorción y desorción eficiente. En este sentido los CNTs, debido a su elevada área superficial, son un material idóneo para usar como adsorbente. La principal ventaja que ofrecen es que no son porosos y que el soluto puede ser retenido en la superficie por fuerzas de van der Waals [168], además, como ya se ha mencionado, son capaces de establecer interacciones π - π e interacciones electrostáticas que hacen que exhiban una fuerte afinidad por moléculas no polares, polares e incluso por analitos iónicos [190].

Como resultado de todo esto, en los últimos años, ha aumentado considerablemente el uso de los CNTs como adsorbentes sólidos en SPE, hecho que se pone de manifiesto con el aumento en el número de artículos publicados relativos a CNTs-SPE, tal y como se refleja en la revisión hecha en 2011 por C. Herrero Latorre y col. [191]. Como puede verse en la Figura 23, los artículos publicados relativos a CNTs y CNTs-SPE, aumentaron drásticamente a partir de 1995. Hasta el 2011 se habían publicado cerca de un millar artículos, en los que se abordaba el uso de la combinación CNTs-SPE para una gran variedad de analitos. Recientemente se han publicado interesantes revisiones acerca de las aplicaciones de los nanotubos de carbono en las técnicas de separación [154,190,192] incluyendo no sólo las aplicaciones de SPE, sino también su uso en cromatografía y electroforesis.

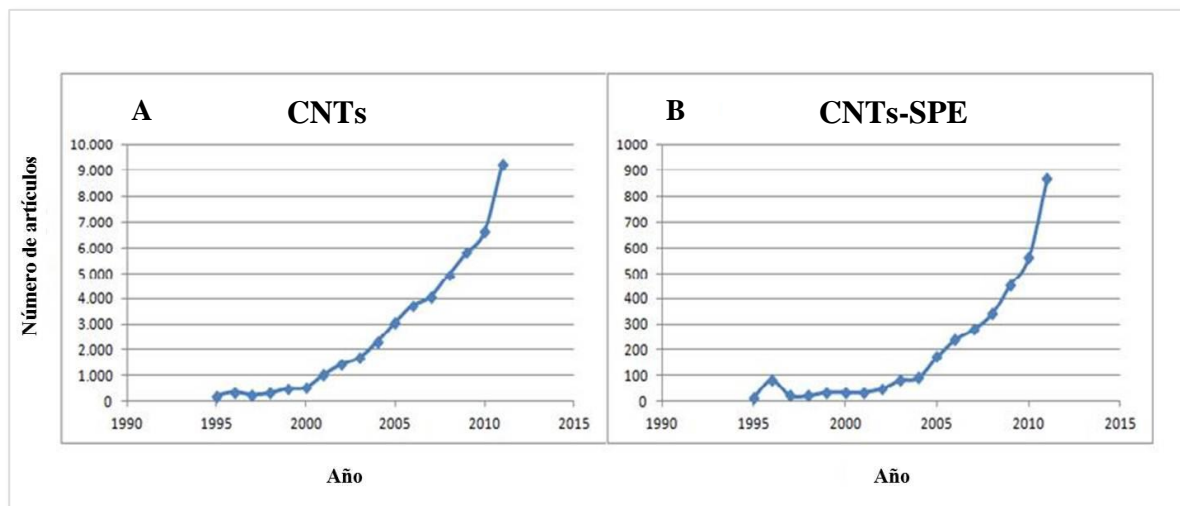


Figura 23. Evolución del número de artículos publicados en relación a: A) CNTs y B) CNTs-SPE en el período 1995-2011.

Si se compara la capacidad de adsorción de los MWCNTs con la de adsorbentes basados en carbono, la de los primeros es en general mucho mayor. Long y Yang [193] mostraron que los MWCNTs pueden adsorber cantidades de TCDD (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina) hasta 10^{34} veces mayores que el carbono activo, debido a su gran superficie específica y a la fuerte interacción de los anillos de benceno con la superficie de grafeno de los nanotubos de carbono.

En la Figura 24 se muestra una comparación de los diferentes mecanismos de adsorción entre un nanotubo de carbono y otros adsorbentes convencionales típicamente porosos o películas poliméricas. La difusión dentro de una estructura porosa conduce a transferencias de masa lentas y, consecuentemente, la liberación cuantitativa de moléculas grandes es un factor limitante. Por el contrario, en los CNTs, la adsorción ocurre

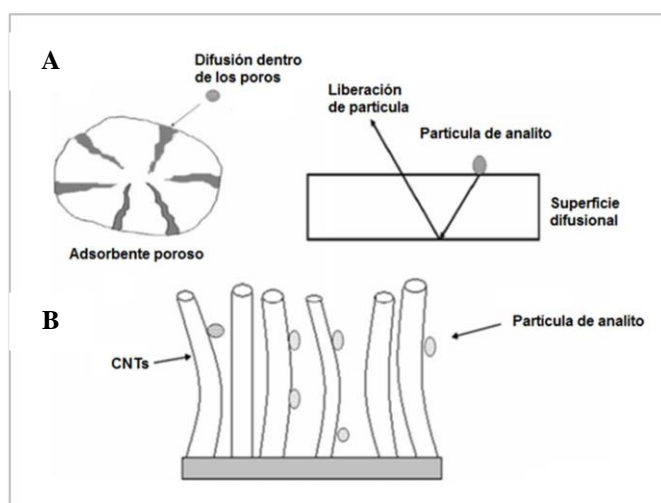


Figura 24. A) Diagrama esquemático de un adsorbente de carbono poroso y la difusión en los poros. B) Adsorción de analitos en un nanotubo de carbono [168].

principalmente en la superficie externa y en los espacios huecos de los tubos abiertos, por lo cual la liberación del analito es relativamente simple [168].

Una amplia gama de compuestos que van desde pequeñas moléculas a grandes compuestos semi-volátiles pueden ser fácilmente concentrados y desorbidos en los CNTs; además las superficies externas de los tubos crean un gran número de espacios inter-tubulares que proporcionan sitios de adsorción específicos. Por otro lado, la excepcionalmente alta relación superficie-volumen proporciona un efecto de confinamiento especial que conduce a un comportamiento físico completamente diferente en relación con los adsorbentes más convencionales. En la Tabla 7 se realiza una comparación de las diferentes características de adsorbentes convencionales y CNTs.

Tabla 7. Comparación entre adsorbentes convencionales y CNTs [168].

Adsorbente	Fuerza	Área superficial ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Analitos	Desventajas
Tenax TA	Débil	35	Compuestos no polares y polares de baja volatilidad	Sufre descomposición química en atmósferas altamente oxidantes (por ejemplo en presencia de gases reactivos como O_3 y NO_2)
Carbotrap	Medio-débil	100	VOC incluyendo cetonas, alcoholes, aldehídos y perfluorocarbono	No adsorbe compuestos polares
Carbopack	Medio-fuerte	240	Hidrocarburos, BTEX	No adsorbe compuestos polares
Carbosieve	Muy fuerte	800	Hidrocarburos C_2 , C_3 , C_4	No es adecuado para compuestos orgánicos superiores
Carboxen1000	Muy fuerte	>1200	Hidrocarburos ultravolátiles	No es adecuado para compuestos orgánicos superiores
CNTs	Muy fuerte	150-1500	Componentes orgánicos muy volátiles o semivolátiles (metano, PAHS)	Necesidad de purificación, relativamente caro

Contrariamente a lo que ocurre con los adsorbentes de carbono convencionales, y como ya se ha indicado, la superficie de los CNTs puede ser fácilmente modificada, resultando, tras la funcionalización, adsorbentes con propiedades diferentes. Suárez y col. [182] han empleado SWCNTs, modificados con grupos carboxílicos, para preconcentrar medicamentos anti-inflamatorios no esteroideos. Los SWCNTs así modificados presentan la capacidad de adsorción típica de los CNTs originales (debido a su alta superficie hidrofóbica), pero también pueden retener analitos cargados o moléculas polares, por interacciones electrostáticas o puentes de hidrógeno con los grupos carboxílicos [190]. De esta forma, mediante la

funcionalización se puede cambiar la solubilidad de los CNTs y hacerlos más hidrofóbicos, al mismo tiempo que se puede lograr un cambio en la selectividad por funcionalización de su superficie, ya sea mediante funcionalización covalente o no covalente, lo que hace que los CNTs se consideren un material muy atractivo tanto para compuestos no polares como para polares [194]. En resumen, los analitos orgánicos apolares, por lo general, son altamente retenidos en nanotubos de carbono no funcionalizados debido probablemente a las interacciones de van der Waals; por el contrario, para la retención de compuestos orgánicos polares es mejor emplear CNTs funcionalizados.

A la hora de utilizar los CNTs como adsorbentes para SPE, una consideración importante a tener en cuenta es la pureza de los mismos. Como ya se ha comentado previamente, la síntesis de los nanotubos lleva generalmente asociada la formación de carbono no tubular (NTC), como por ejemplo carbono amorfo o carbono grafitico. Esto hace que los nanotubos estén recubiertos superficialmente de NTC que tiende a tener estructuras porosas, con un mecanismo de adsorción diferente al de los propios CNTs. Al recubrirse los nanotubos con carbono tubular, se reduce la disponibilidad de estos sitios de adsorción, porque el analito tiene que difundirse a través del NTC para llegar al nanotubo de carbono. Además, la estructura porosa del carbono tubular introduce limitaciones de transferencia de masa, retrasando tanto la adsorción como la desorción. Por tanto, es importante tener en cuenta estas consideraciones para su aplicación como medio de separación [168].

Para el empleo de los CNTs como material adsorbente, se han aplicado diferentes diseños y dispositivos, entre los que destacan columnas, cartuchos y discos. Dado que no existen microcolumnas y cartuchos comerciales, el adsorbente se empaqueta en microcolumnas o cartuchos de diversos materiales y tamaños, que contienen desde unos pocos a cientos de miligramos de CNTs, siendo las más utilizadas las microcolumnas de politetrafluoroetileno, vidrio o polietileno. Otra opción también empleada habitualmente es el uso de cartuchos de polipropileno llenos de nanomaterial adsorbente y de mayor tamaño que las microcolumnas.

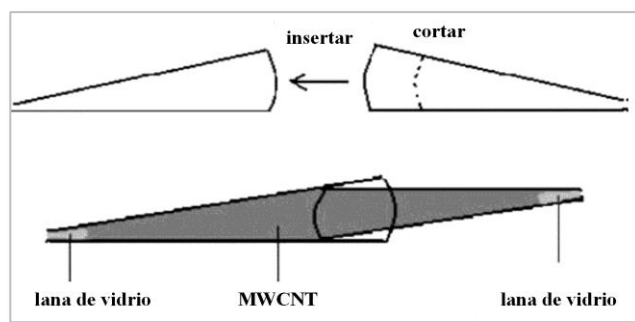


Figura 25. Diagrama esquemático de una micro-columna rellena de MWCNTs [198].

Además, se han empleado otros sistemas fabricados en laboratorio utilizando puntas cónicas, así como microcolumnas construidas mediante el ensamblaje de dos puntas de micropipeta, todas ellas conteniendo nanotubos de carbono [195-199]. En la Figura 25 se recoge un esquema de una microcolumna fabricada a partir de puntas de micropipetas rellena de MWCNTs. A pesar de la preparación manual de estos sistemas de adsorción, se ha demostrado una reproducibilidad adecuada entre ellos [191].

El grupo de investigación de Cai [200,201] fue el primero en empaquetar MWCNTs en columnas SPE o en discos, y emplearlos en la extracción en fase sólida de contaminantes orgánicos presentes en muestras acuosas. Desde entonces hasta la actualidad, diferentes tipos de nanotubos, incluyendo MWCNTs no funcionalizados, MWCNTs modificados y SWCNTs, han sido usados como material de

empaquetamiento en SPE para preconcentrar compuestos fenólicos, pesticidas, compuestos farmacéuticos, iones inorgánicos y compuestos organometálicos en alimentos, muestras medioambientales, fluidos biológicos, etc. En la Figura 26 se presenta un cromatograma de 6 plaguicidas organofosforados adicionados en agua de mar, usando CNTs y Oasis HLB como adsorbentes, observándose una mejora significativa en el empleo de los CNTs [202]. En los últimos años se han realizado excelentes recopilaciones, en las cuales se abordan las diferentes aplicaciones de los CNTs como adsorbentes de analitos orgánicos e inorgánicos [151,190,192,194,203,204].

Los discos de SPE fueron introducidos por 3M Inc. en 1989, como una técnica para la preparación de la muestra más cómoda que los cartuchos convencionales para tratar volúmenes grandes de muestras medioambientales. Al incorporar adsorbentes de pequeño tamaño de partícula, el formato disco posee algunas ventajas: permite mayor superficie, mejor transferencia de masa, tasas de flujo más rápidas y reducción del riesgo de taponamiento y

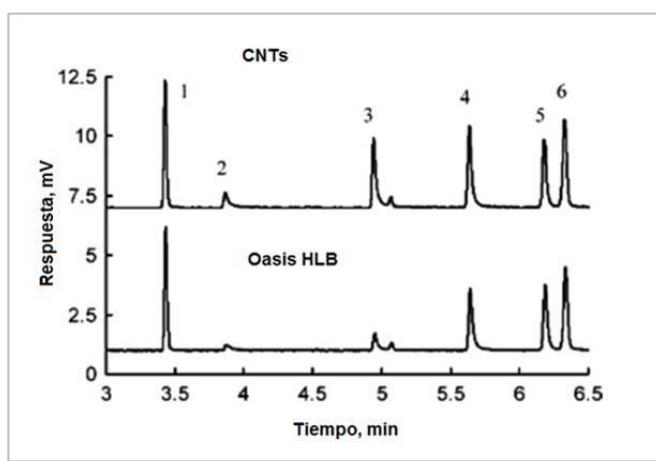


Figura 26. Cromatogramas de plaguicidas organofosforados adicionados en agua de mar y extraídos con CNTs y Oasis HLB [202].

contaminación [194]. Un estudio comparativo con discos de SWCNTs, de carbono activo y de C₁₈ muestra que los discos de SWCNTs pueden extraer más eficazmente los analitos que los discos de otros materiales [204]. Aunque hay que indicar que, en la mayoría de las aplicaciones, los CNTs han sido usados dispuestos en cartuchos y en pocas ocasiones en formato disco.

En la última década, se ha prestado una considerable atención a la SPE como una técnica de preparación de muestras. Sin embargo, en el modo de trabajo convencional, la carga de la muestra consume por lo general mucho tiempo de proceso (especialmente para grandes volúmenes de muestra), además las partículas sólidas que normalmente existen en las muestras pueden causar bloqueos en el sistema y conducir a un proceso fallido. Todas estas desventajas son aún más obvias cuando se emplean nanotubos de carbono como adsorbente, pues su tendencia a formar agregados reduce su área superficial y produce sobrepresiones en el sistema. Por ello además de la extracción en fase sólida convencional (SPE) se han desarrollado otras variantes de la técnica: extracción en fase sólida dispersiva (DSPE), extracción en fase sólida magnética (MSPE) y micro-extracción en fase sólida (SPME) entre otras.

El empleo de la **extracción en fase sólida dispersiva (DSPE)** puede reducir en gran medida el tiempo de preparación de la muestra comparada con la tradicional SPE, ya que el adsorbente es dispersado más eficientemente en la muestra [194]. La técnica DSPE incluye dos variantes: su uso para fines de limpieza y aquel con fines de extracción. Para limpieza es conocida con el acrónimo QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*), y se utiliza para eliminar sustancias interferentes en el análisis de muestras de alimentos con muchos residuos. Recientemente también se ha usado la DSPE para extraer analitos, de manera que el adsorbente se añade directamente a la muestra, sin necesidad de columnas, cartuchos o discos. De este modo, el tiempo de extracción es menor, pues se evita el tiempo necesario para pasar la muestra a través de la columna.

La **extracción en fase sólida magnética (MSPE)** es un nuevo tipo de DSPE, muy empleada también en los últimos años para la preparación de la muestra, y basada en el uso de partículas magnéticas de escala micro o nano (MNPs). La combinación de MNPs con CNTs, ha supuesto combinar la gran capacidad de adsorción de los nanotubos, con la facilidad de separación del adsorbente que contiene el analito, mediante la aplicación de un campo

magnético externo; permitiendo así la extracción efectiva de muchos compuestos orgánicos como fluoroquinolonas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, estrógenos, etc. Aunque hay que indicar que, hasta el momento, la MSPE ha sido aplicada como técnica de separación para la determinación de un número muy limitado de sustancias inorgánicas [194,202]

La **micro-extraction en fase sólida** (SPME) fue introducida por Arthur y Pawliszyn en 1990 como una técnica de preparación de la muestra libre de disolventes que integra las etapas de limpieza (*clean-up*) y preconcentración [205]. Esta técnica tiene importantes ventajas sobre las técnicas de extracción convencionales debido a su facilidad de uso, su mayor rapidez, posibilidad de automatización, su portabilidad y estar libre de disolventes. En la actualidad, se desarrolla normalmente usando fibras de SPME, formadas por una fibra corta y delgada de sílice fundida recubierta con el adsorbente [194]. Se han investigado diferentes procedimientos para unir los CNTs a la fibra, y algunos de los procedimientos empleados han sido el recubrimiento de la fibra por inmersión en una suspensión de CNTs, insertando los nanotubos en un polímero, la inmovilización por un procedimiento de sol-gel, y mediante electrodeposición de los nanotubos (Figura 27) [206]. Para realizar el muestreo, la fibra es sumergida en la muestra y los analitos se distribuyen entre la muestra y el recubrimiento. Posteriormente tiene lugar la desorción, colocando la fibra en el inyector de un cromatógrafo de gases. El uso de SPME se asocia con frecuencia con problemas de arrastre (*carryover*), lo cual provoca desorciones incompletas. Además esta técnica es susceptible de efecto matriz, por lo cual, cuando se analizan muestras complejas, éstas deben tratarse previamente con una etapa de limpieza.

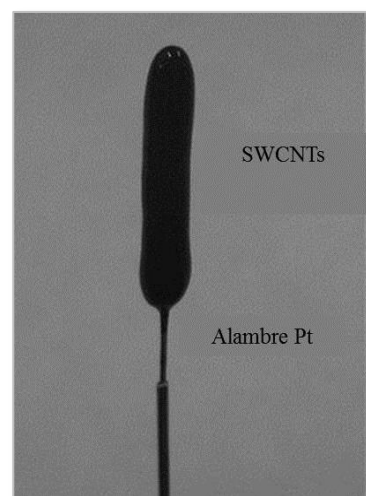


Figura 27. Depósito de SWCNTs en el alambre de Pt. [206].

Para evitar esta etapa, Basheer y col. [207] han desarrollado un nuevo sistema de extracción en fase micro-sólida, usando MWCNTs como adsorbentes empaquetados dentro de una membrana de polipropileno porosa (Figura 28), que aplicaron para determinar pesticidas organofosforados en muestras de aguas residuales. Al igual que en la SPE, este procedimiento de extracción, implica una adsorción del analito seguida de una desorción pero en una escala mucho menor, por eso se denominó **micro-SPE** (μ -SPE). La membrana usada para retener el adsorbente actúa como un filtro excluyendo las interferencias potenciales, de forma que se elimina o se reduce la influencia de partículas que son mayores que el tamaño del poro [168,194]. A pesar de todo la μ -SPE también tiene alguna de las desventajas de la SPME, incluyendo el arrastre de analito, la fragilidad de la fibra, y el coste relativamente alto [208].

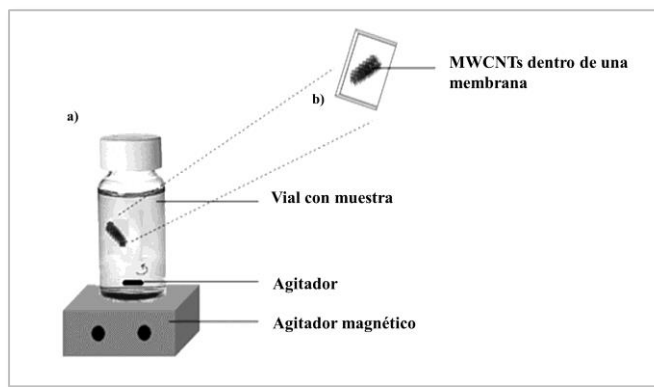


Figura 28. Esquemas de A) Sistema de μ -SPE, B) Imagen ampliada del dispositivo de extracción [207].

Recientemente, Yang y col. [209] han propuesto un nuevo tipo de SPE al que denominaron **Microextracción en fase sólida en fibra hueca protegida con una membrana líquida** (HFLM-SPME), que consiste en emplear para la extracción un adsorbente que consiste en una fibra hueca cuyos poros se han rellenado con CNTs y que ha sido descrito como un procedimiento adecuado para extraer en una etapa analitos de muestras complejas. En esta técnica, una fibra se protege longitudinalmente con una membrana de fibra hueca de polipropileno poroso, la cual se llena con una fase orgánica inmiscible en agua. Para preparar la fibra de SPME utilizaron como fase de extracción polietilenglicol (PEG) injertado en

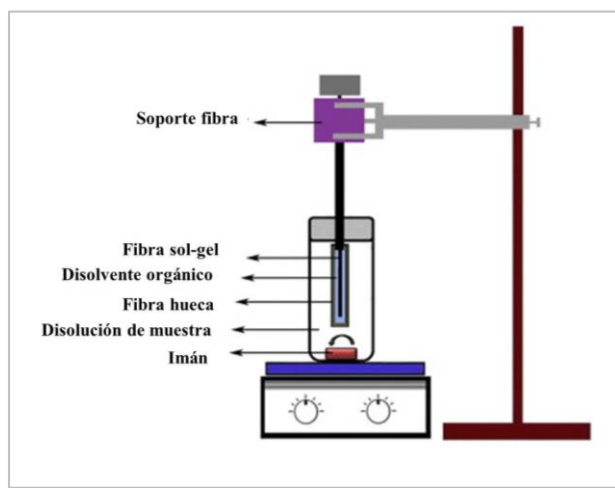


Figura 29. Esquema del sistema HFLM-SPME [210].

nanotubos de carbono de pared múltiple (PEG-g-MWCNTs). En la Figura 29 se observa un esquema del sistema HFLM-SPME. Al igual que en la μ -SPE se consigue un menor efecto matriz, ya que las fibras huecas porosas funcionan como un filtro. Pero hay que tener en cuenta que en este tipo de SPE, hay dos interfaces, por lo que las moléculas de soluto necesitarán más tiempo para pasar a través de ellas [210,211].

2.9. CNTs COMO ADSORBENTE PARA LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE METALES Y DETERMINACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS

2.9.1. Introducción

Aunque la presencia de metales pesados y elementos traza en el medio ambiente tiene dos orígenes, natural y antropogénico, las fuentes principales son la actividad industrial (desechos, minería, metalurgia, plantas incineradoras y la quema de combustibles fósiles entre otros) y la actividad agrícola. Debido a los posibles efectos adversos de estos elementos en personas, animales y ecosistemas, el control y la evaluación de los niveles de metales en diversas matrices medioambientales, agrarias, alimentarias y clínicas son actividades cada vez más demandadas por las autoridades y los organismos reguladores [212]. Por esta razón, en los últimos años el desarrollo de procedimientos analíticos sensibles para determinar especies metálicas en diferentes matrices ha sido un área de investigación muy activa [213,214].

Para esta tarea, normalmente, se utilizan técnicas de espectrometría debido a sus características analíticas, buena selectividad y sensibilidad adecuada. Sin embargo, a pesar de la alta sensibilidad de técnicas como la espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS), la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) o la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), en ciertos casos no es suficiente para determinar la concentración del metal a los niveles tan bajos como los que pueden encontrarse en algunas muestras cotidianas. Además, como consecuencia de las interferencias, estas técnicas tienen algunas limitaciones. Por lo tanto, y a pesar de los avances en instrumentación, los procedimientos de separación y preconcentración siguen siendo una estrategia analítica esencial previa a la propia etapa de determinación del analito.

Se han empleado una amplia variedad de técnicas, incluyendo precipitación, floculación, filtración y ultrafiltración, adsorción y extracción, entre otras, para la separación y

preconcentración de metales en muestras líquidas y sólidas. Los procedimientos más utilizados son la extracción líquido-líquido (LLE) [215] y la extracción en fase sólida (SPE) [216] debido a sus ventajas. La SPE se emplea habitualmente en el análisis de trazas, al ser uno de los métodos más adecuados para preconcentrar analitos y eliminar posibles interferencias. Las ventajas de la SPE comprenden un alto factor de enriquecimiento, una buena recuperación, rapidez, uso de pequeñas cantidades de disolventes orgánicos, así como la posibilidad de automatización (en línea o en discontinuo). El empleo de la SPE se ha incrementado en las últimas décadas debido al desarrollo de una gran variedad de materiales para su uso como adsorbentes sólidos: celulosa, sílice ligada o modificada, carbono activo, poliuretano, alúmina, resinas de intercambio, silicato de magnesio, zeolitas, etc.

Hoy en día, y desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono en 1991, está claro que éstos podrían ser un material apropiado para la SPE debido a sus propiedades físicas y químicas ya comentadas (como por ejemplo, su elevada área superficial y volumen interior, su estabilidad, su resistencia mecánica, y la posibilidad de establecer interacciones π - π), proporcionando un mejor rendimiento en la separación y preconcentración. Además como la superficie de los nanotubos de carbono se puede modificar de diferentes maneras, mediante funcionalización química o física, se pueden introducir diversos grupos funcionales, biomoléculas, polímeros, bacterias, y otros, con el fin de mejorar la selectividad. Por estas razones, en los últimos años, ha aumentado considerablemente el uso de nanotubos de carbono sin tratar, oxidados o modificados como adsorbentes sólidos en extracción en fase sólida para la determinación de metales. Se han publicado recientemente interesantes revisiones acerca de este tema [217,218].

En todos los casos, el desarrollo de los métodos de espectrometría atómica unida al empleo de SPE-CNT comprende varias etapas: la preparación o síntesis de los CNTs, el relleno de las microcolumnas o cartuchos con el material adsorbente, la adsorción del metal sobre la superficie de los nanotubos de carbono, la desorción cuantitativa del analito y la medición por diferentes técnicas de espectrometría atómica.

2.9.2 Factores a considerar

- **SWCNTs ó MWCNTs**

Hoy en día, es posible sintetizar nanotubos de carbono con un número exacto de capas, aunque la mayoría de las aplicaciones analíticas desarrolladas hasta el momento de estos materiales en SPE están basadas en nanotubos de pared múltiple, mientras que los nanotubos de pared simple se utilizan en un menor número de casos [219-221]. Los SWCNTs tienen un menor diámetro que los MWCNTs y una mayor área superficial por unidad de volumen, por lo tanto parece que podría obtenerse una mayor eficacia de extracción. En relación con esta hipótesis, es necesario llevar a cabo nuevas investigaciones, ya que los únicos estudios comparativos sobre la adsorción de metales por SWCNTs y MWCNTs, fueron hechos para la extracción de Zn(II) en muestras de agua por Lu y col. [222,223]. Estos autores demostraron que los nanotubos de pared simple presentan una mayor capacidad de adsorción que los nanotubos de pared múltiple. Sin embargo, el menor uso de los SWCNTs en SPE, en comparación con MWCNTs, puede explicarse en base a los siguientes aspectos:

- (i) El proceso de síntesis, con el fin de obtener sólo nanotubos de pared simple, es complejo. Aunque se han descrito varios métodos para la fabricación de SWCNTs, su principal inconveniente es la necesidad de optimizar rigurosamente las condiciones de síntesis y usar catalizadores con el fin de evitar la formación de MWCNTs [224].
- (ii) Se ha demostrado que los SWCNTs son más resistentes a los tratamientos ácidos que los MWCNTs [225]; por lo tanto, las condiciones de oxidación ácida para la introducción de grupos funcionales hidroxilo, carboxilo y carbonilo son más favorables en MWCNTs que en SWCNTs, ya que para estos últimos es necesario emplear condiciones más agresivas.
- (iii) Los MWCNTs tienen mejores propiedades físicas como una mayor resistencia, así como mayores conductividades térmica y eléctrica.

Debido a estas razones, la mayoría de las aplicaciones para la determinación de metales se han realizado empleando MWCNTs. Como regla general puede considerarse que al oxidarse con mayor facilidad los MWCNTs que los SWCNTs, los MWCNTs-oxidados presentan una mayor capacidad de adsorción que los SWCNTs-oxidados [152]. Los resultados obtenidos mediante determinaciones electroquímicas han llevado a la conclusión de que la elección del tipo de nanotubo de carbono a emplear deberá ser considerado cuidadosamente [226].

- **Funcionalización**

El empleo de los nanotubos de carbono como adsorbente en extracción en fase sólida comprende nanotubos puros, oxidados y funcionalizados. Los CNTs puros poseen enlaces no polares y una alta relación longitud-diámetro que los hace insolubles en la mayoría de disolventes orgánicos y disoluciones acuosas y, además provoca que presenten una gran tendencia a la agregación espontánea lo que limita su uso en SPE [152]. Por otra parte, son adsorbentes débiles para los iones metálicos debido a su alta hidrofobicidad, así como por la falta de grupos funcionales en su superficie.

Con el fin de evitar estos inconvenientes se han realizado numerosas modificaciones de la superficie de los CNTs. Para mejorar su solubilidad y dispersión en disoluciones acuosas se ha llevado a cabo la oxidación de los nanotubos de carbono, introduciendo grupos hidroxilo, carbonilo y carboxilo en su superficie, mejorando la solubilidad del material y la producción de radicales que contienen oxígeno, los cuales tendrán la capacidad de retener una amplia variedad de metales a un pH apropiado [227].

Otro enfoque importante, a la hora de mejorar la solubilidad y aumentar la selectividad de los CNTs, es su funcionalización mediante la unión de una serie de grupos funcionales a las paredes laterales de los mismos, por medio de diferentes reacciones químicas o interacciones físicas. En la Figura 30, se muestra una comparación de la capacidad de adsorción de Pb(II) por diferentes tipos de materiales adsorbentes basados en CNTs modificados [228].

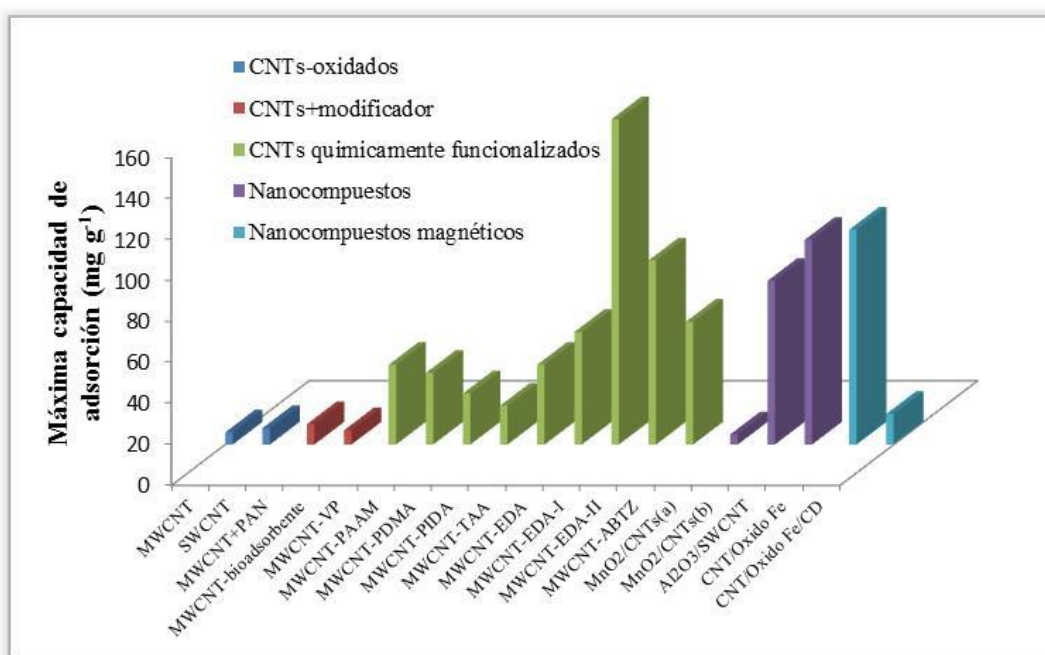


Figura 30. Capacidad de adsorción de nanotubos de carbono modificados para Pb(II) [228].

• Diseños y dispositivos

En general se han desarrollado una gran variedad de estrategias y dispositivos para el empleo de los nanotubos como material adsorbente en SPE. Al no disponer en el mercado de microcolumnas o cartuchos con nanotubos de carbono, en la mayoría de los casos, los CNTs se dispusieron en microcolumnas de politetrafluoroetileno (PTFE), vidrio o polietileno (PE), con tamaños comprendidos entre 20-60 mm de longitud y 2-10 mm de diámetro interno, y con una cantidad de 20-50 mg de CNTs [219,229-233]. En dichos diseños, preparados en el propio laboratorio, se emplearon en algunos casos microcolumnas de tamaño inferior (6 x 3 mm) [234] o superior (100-150 x 10 mm) [235,236] siendo necesario por tanto usar una masa de CNTs también inferior (4-6 mg) o superior (100-200 mg), respectivamente. El tamaño de la columna así como la masa de adsorbente, deberán determinarse en base al volumen de muestra y a la sensibilidad de la técnica analítica utilizada para la cuantificación. Mediante estos sistemas, se ha podido llevar a cabo la preconcentración de niveles muy bajos de iones metálicos a partir de grandes volúmenes de muestra. Sin embargo, para la reutilización de las columnas se ha comprobado que se necesitan cuidadosos lavados para evitar la contaminación cruzada y problemas de sobrepresión. Otra opción comúnmente aplicada para el empleo de los CNTs es el uso de cartuchos de polipropileno [237-239], por lo

general de 6 mL. En este caso, debido al mayor tamaño del dispositivo, la masa de CNTs empleada podría llegar hasta los 300 mg.

Como se puede ver en muchos de los trabajos que aparecen citados más adelante, una de las principales ventajas de los CNTs dispuestos en una microcolumna es la fácil regeneración del material de adsorción (hasta 100-200 ciclos de adsorción-elución), de manera que la misma microcolumna se puede reutilizar para sucesivos análisis [240,241]. Otra importante ventaja de estos dispositivos es la posibilidad de desarrollar sistemas automáticos de inyección en flujo (en línea/o discontinuos) con el fin de automatizar no sólo el procedimiento SPE, sino todo el proceso de determinación. Se puede ver un esquema general de un sistema de extracción en fase sólida automatizado, basado en nanotubos de carbono, en el artículo de Tarley [242], el cual se muestra en la Figura 31. Mediante este tipo de procedimientos se consigue la separación/preconcentración en línea, obteniendo una mejor sensibilidad, simplicidad de la operación, eliminación eficiente de la matriz, rapidez en la frecuencia de muestreo, así como la utilización de pequeños volúmenes de muestra y reactivos [196,232,233,243].

Se han empleado también otros tipos de diseños tales como CNTs recubriendo la superficie de un tubo de sílice o láminas finas recubiertas de nanotubos, etc., (aunque en menor medida), para la determinación de diferentes analitos por diversas técnicas analíticas [201,244-246].

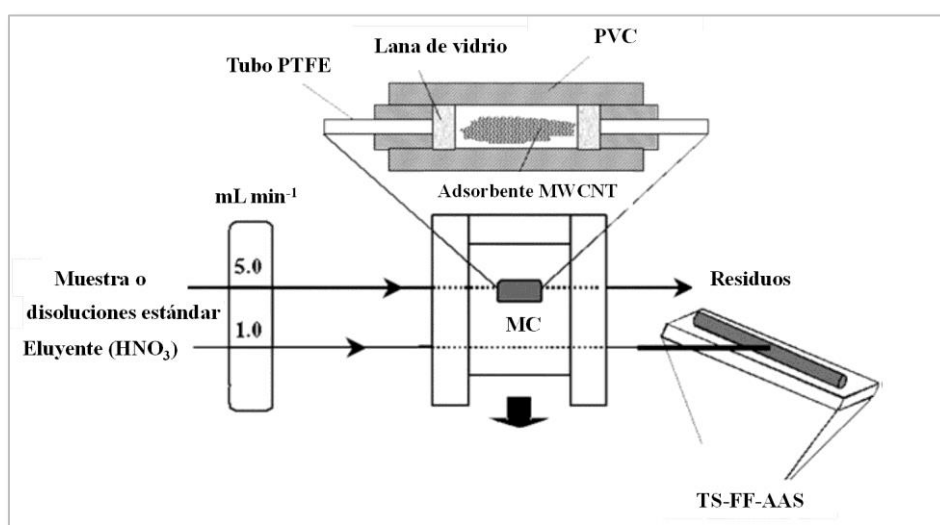


Figura 31. Diagrama de un sistema SPE con inyección en flujo para la preconcentración de cadmio sobre MWCNTs [242].

• Efecto del pH

Una vez que se selecciona el material adsorbente, y el dispositivo a emplear, es necesario optimizar los diversos factores que afectan a las etapas anteriores: cantidad de CNTs, pH, velocidad de flujo, volumen de muestra y el tipo y concentración de la disolución eluyente, entre otros.

Dado que la capacidad de los nanotubos de carbono para retener iones inorgánicos es altamente dependiente del pH, el estudio de este parámetro en la adsorción del metal por los CNTs es un factor extraordinariamente importante tal y como se puede ver en la Figura 32 [235]. El pH de la disolución que pasa a través de la columna que contiene los nanotubos, afectará a la estructura del adsorbente y al grado de ionización y especiación del analito adsorbido [219]. La carga superficial del nanotubo adsorbente dependerá del pH del electrolito circundante, existiendo un valor de pH, llamado "punto de carga cero" (PZC), al que la superficie del nanotubo tendrá carga neta cero [247]. Cuando el pH de la disolución sea superior al pH_{PZC} , la carga negativa de los grupos activos de la superficie proporcionará interacciones electrostáticas favorables para la adsorción de especies catiónicas. Por el contrario, a un pH más bajo que el pH_{PZC} , la neutralización de la carga superficial de los CNTs producirá la desorción de los iones metálicos. Además, la competencia entre protones y cationes por los mismos sitios de adsorción producirá la elución en la columna. En general, se emplean valores de pH mayores que 6 para la adsorción de metales (aunque en ciertos casos tales como algunos metales pertenecientes a las tierras raras la retención de los elementos se alcanzó a valores de pH inferiores [229] y se utilizan pHs menores que 2 para la elución.

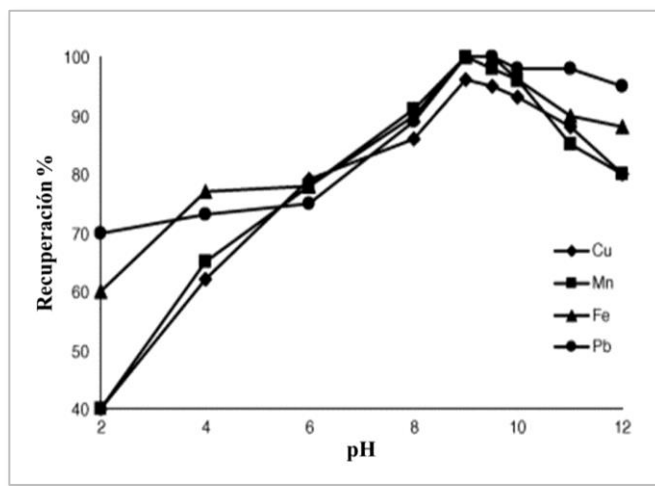


Figura 32. Influencia del pH en la recuperaciones de iones de analito en una columna de nanotubos de carbono de pared múltiple (N = 3, eluyente: HNO_3 1 M en acetona) [235].

Los metales retenidos son generalmente eluidos, para su recuperación cuantitativa, mediante disoluciones ácidas de HNO_3 o HCl 0.3-2.0 M. Por otra parte, los CNTs también se

regeneran con el fin de ser empleados de nuevo como material adsorbente. A pesar de todas estas consideraciones, es necesario llevar a cabo estudios de recuperación para cada caso particular y estudiar diferentes valores de pH con el fin de obtener las condiciones óptimas, ya que éstas dependen de factores interrelacionados tales como la naturaleza del ion metálico, el grado de oxidación y el número de grupos oxígeno contenidos en la superficie de los nanotubos de carbono [248] (Figura 33).

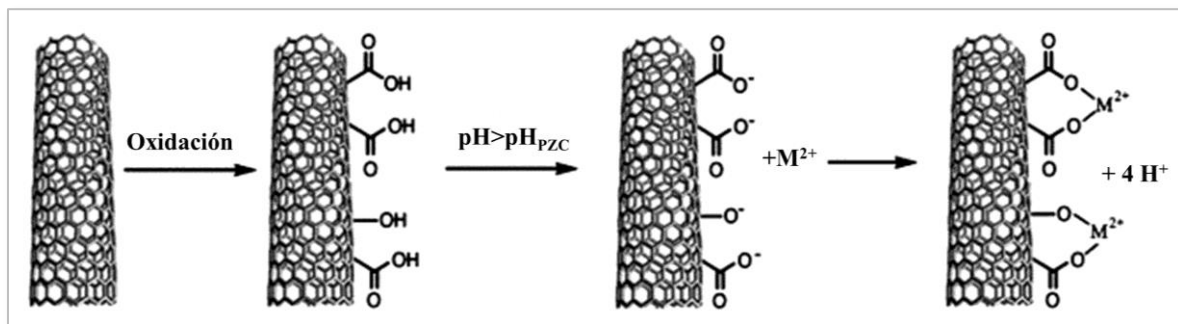


Figura 33. Adsorción de especies metálicas por los CNTs a pH más alto que pH_{PZC} .

• Técnicas de determinación por espectrometría atómica

Una vez que las especies metálicas han sido retenidas y cuantitativamente desorbidas mediante SPE con nanotubos de carbono como adsorbente, se emplearán diferentes técnicas de espectrometría atómica para su determinación: espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS) [195,230-239,249-253], espectrometría de absorción atómica con termonebulización en horno de llama (TS-FF-AAS) [242], espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) [196,240,254], espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) [229,230], espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) [219-221,255], espectrometría de fluorescencia atómica con generación de hidruro (HG-AFS) [197,198], espectrometría de fluorescencia atómica con generación de vapor frío (CV-AFS) [234] y espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío (CV-AAS) [256].

A pesar de la amplia variedad de técnicas de espectrometría atómica usadas, la mayoría de las aplicaciones han sido desarrolladas para FAAS y ETAAS. Estas dos técnicas han sido acopladas con éxito a diferentes sistemas de inyección en flujo produciendo una mejora en la velocidad de muestreo y una notable mejora en la precisión en comparación con metodologías

en discontinuo [196,232,253,257]. Para la determinación de analitos metálicos eluidos de las columnas SPE-CNTs también se ha utilizado la técnica de ICP (AES y MS), debido a su carácter multielemental, su bajo límite de detección, y la posibilidad de realizar estudios de especiación.

2.9.3. Aplicaciones de los CNTs para la determinación de especies metálicas mediante SPE

A continuación se presentan las aplicaciones ya publicadas de los nanotubos de carbono para la preconcentración en fase sólida de metales en diversas matrices y su posterior determinación mediante técnicas de espectrometría atómica. En la primera parte se resumen los métodos basados en el uso de nanotubos de carbono sin tratar y oxidados y en la segunda se incluyen los métodos analíticos que utilizan nanotubos de carbono funcionalizados.

2.9.3.1. Aplicaciones de nanotubos de carbono brutos y oxidados

En general, la mayoría de las aplicaciones de los nanotubos de carbono como adsorbente en SPE se basan en el uso de CNTs oxidados, debido a sus ventajas sobre los CNTs sin oxidar comentadas anteriormente [258]. Sin embargo, en ciertos casos, también se han utilizado nanotubos brutos.

Varios autores han estudiado comparativamente la eficacia de adsorción de nanotubos de carbono oxidados y puros, así El-Sheikh [259] comparó el factor de enriquecimiento logrado con el empleo de CNTs oxidados y no oxidados para la adsorción de Cr(III), Mn(II), Pb(II), Cu(II), Cd(II) y Zn(II) antes de su determinación por ETAAS. Para todos los metales estudiados los nanotubos de carbono oxidados presentaron mejor capacidad de adsorción en comparación con los no oxidados, en los que se observó una menor selectividad hacia los iones metálicos. A una conclusión similar llegaron Savio y col. [257], que demostraron que el empleo de un adsorbente basado en CNTs oxidados fue el que mostró una mayor capacidad y rango lineal para la determinación de Ni y Pb por ETAAS.

Por todas estas razones, la mayoría de los métodos de análisis desarrollados se han basado en CNTs oxidados obtenidos por tratamiento de los nanotubos brutos con diferentes oxidantes como permanganato de potasio, ácido nítrico, ácido sulfúrico, peróxido de

hidrógeno y sus mezclas, y usando para la oxidación, energía de microondas o de ultrasonidos. Una vez que la oxidación química tiene lugar, es recomendable secar los CNTs oxidados antes de su uso como adsorbentes, a temperaturas de 80-120 °C hasta peso constante [204].

El uso de los nanotubos de carbono puros u oxidados como adsorbentes para la preconcentración de metales se ha llevado a cabo siguiendo dos procedimientos:

- a) El ion metálico en disolución es retenido por el nanotubo de carbono.
- b) El ion metálico en disolución es quelatado previamente, mediante el uso de un ligando adecuado y el quelato formado es retenido por el nanotubo.

2.9.3.1.1. Preconcentración del ion metálico en el nanotubo

Mediante este procedimiento, los iones metálicos son retenidos directamente en los CNTs (oxidados o brutos) utilizados como adsorbente y empaquetados en una microcolumna. La elución de los analitos se realiza con pequeños volúmenes de una disolución de un ácido fuerte y su determinación se lleva a cabo por diferentes técnicas de espectrometría atómica. Entre la metodología analítica desarrollada siguiendo esta estrategia, se diferencian dos enfoques: unielemental y multielemental. En la Tabla 8 se presenta un resumen de estos métodos (en orden alfabético de acuerdo al metal analizado).

Los métodos unielementales se han desarrollado principalmente para una serie de metales pesados con interés analítico debido a su toxicidad para el medio ambiente y los organismos vivos, como el Cd [237,240,242], Cu [236,238,249-251], Hg [234,256], Pb [198,253], Pd [239], Bi [197] y Sn [254]. Existen también diferentes métodos de concentración mediante SPE-CNT y su posterior determinación por espectrometría atómica para otras especies metálicas como el Au [260] y Ag [231] en muestras geológicas y de agua. Se realizaron estudios de especiación empleando CNTs como adsorbente para V(IV,V) y para Mn(II) y Mn(VII) [196,221].

En la bibliografía se describen también, numerosos procedimientos de preconcentración SPE-CNT multielementales, en los que dos, tres o más analitos metálicos son retenidos de manera simultánea en los CNTs brutos u oxidados (ver Tabla 8). En la mayoría de los casos, después de la elución, se consigue llevar a cabo la determinación de todos los analitos en una

sola medida usando técnicas de análisis multielemental como ICP-AES [229,230] y ICP-MS [219,220,255]. Otros procedimientos de preconcentración multielementales, basados en ETAAS [257,259] y FAAS [195,232,233,235] necesitan la medición secuencial de los diferentes analitos considerados.

Teniendo en cuenta tanto la preconcentración unielemental como la multielemental, como regla general, los métodos basados en CNTs producen elevados factores de enriquecimiento que permiten la determinación de especies metálicas en niveles de concentración muy bajos. En algunos trabajos [239,249,255] se alcanzaron factores de preconcentración (PF) bastante altos (150 a 165), aunque en la mayoría de los casos, los valores obtenidos están comprendidos entre 20 y 100. Los límites de detección logrados (LOD) están en el rango de varios ng L^{-1} , según la técnica atómica usada. En cuanto a la eliminación de la matriz, como se ha indicado, la retención de metales en los CNTs implica interacciones electrostáticas, por esta razón, a pesar del gran área superficial y el elevado volumen de poros del material de adsorción, la presencia de especies catiónicas interferentes puede causar la competencia por los sitios de adsorción de los nanotubos de carbono [238]. Por lo tanto, en todos los casos se han llevado a cabo análisis de interferencias para evaluar la aplicabilidad de los métodos optimizados. La mayoría de las aplicaciones revisadas estaban libres de las interferencias producidas por iones extraños (en proporciones interferencia/analito de hasta 10^2 - 10^4). Como conclusión, cabe indicar que la baja incidencia de interferencias observada se puede explicar por la combinación de dos factores. En primer lugar, porque los CNTs tienen capacidad de adsorción suficiente para ambos tipos de iones, los que se desea determinar y los extraños (a los niveles de concentración comúnmente presentes en las muestras medidas); por lo que, tanto el analito, como los iones interferentes pueden ser retenidos y, posteriormente eluidos de la columna de nanotubos al pH apropiado. En segundo lugar, después de la extracción en fase sólida, la medición del analito se realiza mediante técnicas de espectrometría atómica de alta selectividad que presentan la ventaja adicional de eliminar la matriz.

En relación con la precisión de las aplicaciones descritas en bibliografía, se deben tener en cuenta dos consideraciones:

- (i) No está asegurada la pureza y la reproducibilidad de los CNTs utilizados (incluyendo la longitud y el diámetro de los CNTs) procedentes de diferentes lotes, e incluso siendo del mismo fabricante.

- (ii) Todas las aplicaciones han sido realizadas usando dispositivos hechos en laboratorio ya que todavía no están disponibles microcolumnas o cartuchos comerciales de CNTs.

A pesar de estas dificultades, como se muestra en la Tabla 8, en general en todos los métodos se alcanzaron buenos resultados para la precisión, con valores de desviación estándar relativa (RSD) inferiores al 5 %. También se evaluó la exactitud de los diferentes métodos, mediante estudios de recuperación y empleando diferentes materiales de referencia certificados (CRMs). Los resultados publicados fueron satisfactorios en el rango de 90-110 %.

Otro factor importante que afecta a la aplicabilidad de los métodos SPE basados en CNTs es la reutilización de la columna. La estabilidad y la capacidad de regenerar numerosas veces el sistema de adsorción es muy importante y constituye un valioso indicativo de su utilidad. Sin embargo, la mayoría de los estudios citados no hacen mención sobre este aspecto. En los trabajos en los que se estudió este parámetro, la columna o cartucho se pudieron emplear un promedio de entre 30 y 100 veces sin disminución de la capacidad de adsorción o deterioro. En determinados casos, se llegó a valores más altos, de 200 a 300 veces [196,250,257].

Hay que señalar que una gran parte de las aplicaciones presentadas en este estudio se llevaron a cabo en muestras simples, como diferentes tipos de aguas. Sólo en unos pocos casos se desarrollaron métodos para determinar metales en muestras más complejas (té y arroz [232], vegetales [233], pelo humano y mejillones [255], polvo [239], orina [240], aguas de lagos y lodos [257]). Lamentablemente, la determinación de cantidades a nivel de ultra-traza de metales en muestras complejas no es una tarea fácil debido a la baja concentración del metal y a las interferencias asociadas a la matriz. Las muestras ambientales, alimentarias, farmacéuticas, y biológicas son muestras complejas que contienen proteínas, sales, ácidos, bases, y una gran variedad de compuestos orgánicos. Así, a pesar de haber avanzado en el desarrollo de instrumentos analíticos altamente eficientes, hasta el momento es necesario el tratamiento previo de las muestras para extraer, aislar y concentrar las especies metálicas. Por lo tanto, uno de los desafíos analíticos a lograr es la mejora de los métodos de determinación de metales por SPE-CNT y espectrometría atómica de modo que puedan ser aplicados en matrices más complejas.

Tabla 8. Aplicaciones de los CNTs brutos y oxidados como adsorbentes en SPE para la determinación de especies metálicas en diferentes muestras.

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD (ng L ⁻¹)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
Ag(I)	Muestras geológicas y agua	MWCNTs oxidados	FAAS	0.60 x 10 ³	50	3.8	99.6-99.2 CRM ^a	50	SPE/Microcolumna de PTFE de 20x3 mm rellena con 50 mg de CNTs	[231]
Au(III)	Muestras geológicas y agua	MWCNTs oxidados	FAAS	0.15 x 10 ³	75	3.1	95-103 CRM	50	SPE/Microcolumna de PTFE de 20x3 mm rellena con 50 mg de CNTs	[260]
Bi(III)	Aguas (lago, río y mar)	MWCNTs oxidados	HG-AFS	0.8		4.6	91.0-105.5 CRM	100	SPE/Microcolumna formada por 2 puntas de micropipeta rellenas con 200 mg de CNTs en un sistema FIA acoplado en línea	[197]
Cd(II)	Orina	MWCNTs oxidados	ETAAS	0.01 x 10 ³	3.4	3.4-9.8	97-104	100	SPE/Microcolumna de PTFE rellena con 45 mg de CNTs en un sistema FIA	[240]
	Aguas (nieve e industrial)	MWCNTs oxidados	FAAS	0.15 x 10 ³		2.06	91.3-108.0		SPE/Cartucho de PP relleno con 200 mg CNTs	[237]
	Aguas (mineral, consumo y río)	MWCNTs oxidados	TS-FF-AAS	11.4	51	2.1-6.5	94-107 CRM		SPE/Microcolumna rellena de CNTs con un sistema FIA acoplado en línea	[242]
	Aguas (consumo y lago)	MWCNTs oxidados	FAAS	0.42 x 10 ³	150	3.5	96-102 CRM	50	Microcolumna de PTFE rellena de CNTs	[249]
Cu(II)	Aguas (consumo, subterránea, nieve y río)	MWCNTs oxidados	FAAS	0.32 x 10 ³		2.9	90.3-111.0	200	Cartucho de PP relleno con 200 mg de CNTs	[250]
	Aguas (consumo, bebida y bahía)	MWCNTs oxidados	FAAS	0.27 x 10 ³	100	0.99-2.4	96-104 CRM	100	Columna de vidrio de 100x10 mm rellena con 50 mg de CNTs	[251]
	Sedimentos y agua	MWCNT brutos	FAAS	1.46 x 10 ³	60	<5	97.9-99.2 CRM	60	Microcolumna de vidrio de 100x10 mm rellena con 200 mg CNTs	[236]
	Agua	MWCNTs oxidados	FAAS	2.1 x 10 ³	12	2.8-6.3	87.5-91.1 CRM		Cartucho de 6 mL de PP relleno con 200 mg de CNTs	[238]
Hg(II)	Agua (consumo, lago y río)	MWCNTs brutos	CV-AFS	1.2	39	4.3	90-96 CRM		MSPE/microcolumna de PTFE de 6x3 mm rellena con 6 mg de CNTs en un sistema FIA acoplado en línea	[234]
	Agua (consumo y embalse)	MWCNTs oxidados	CV-AAS	12.3	30	4.8-12.0	88-95		MSPE/microcolumna rellena de CNTs	[256]
Ni(II)	Agua (subterránea consumo, embalse y residual)	MWCNTs oxidados	FAAS	0.60 x 10 ³	50	2.82	84.2-121.1		MSPE/microcolumna rellena de CNTs	[252]

Tabla 8. (Continuación)

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD (ng L ⁻¹)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
Pb(II)	Agua y hierbas medicinales	MWCNTs oxidados	FAAS	2.6 x 10 ³	44.2	1.4-7.7	90.6-96.8		MSPE/microcolumna 60x10 mm rellena con CNTs con en un sistema FIA en línea	[253]
	Agua mineral	MWCNTs oxidados	HG-AFS	2.8	26	4.4	92-108 CRM	50	MSPE/microcolumna formada por 2 puntas de micropipeta en un sistema FIA en línea	[198]
Pd(II)	Agua, cenizas, polvo carretera	MWCNTs oxidados	FAAS	50 x 10 ³	165	5.3	93.7 CRM	si	CSPE/cartucho 6 mL relleno con 300 mg de CNTs	[239]
Sn(II)	Agua (mineral, de mina, y lago)	MWCNTs oxidados	ETAAS	0.73 x 10 ³	2.66	7.0-8.6	91.5-103.0		MSPE/microcolumna de PE de 50x10 mm de PE	[254]
Mn (II, VII)	Agua	SWCNTs brutos	ICP-MS	0.031 x 10 ³ 0.054 x 10 ³	60	4.2 5.1	94.0-102 CRM	40	MSPE/microcolumna de PTFE rellena con 40 mg de SWCNTs	[221]
V(IV, V)	Agua mineral	MWCNTs oxidados	ETAAS	19	20	3.3	96-102 CRM	300	Microcolumna de punta cónica en sistema FIA acoplado en línea. Especiación tras enmascarar el V(IV)	[196]
Au(III) Pd(II)	Muestras geológicas y agua	SWCNTs oxidados	ICP-MS	0.23 x 10 ³ 0.06 x 10 ³	75	5.4 3.7	93.6-97.8 94.4-103	30	Columna cónica rellena con 20 mg de SWCNTs	[220]
Cd(II) Cu(II)	Té, cabello humano, harina de arroz	MWCNTs brutos	FAAS	0.30 x 10 ³ 0.11 x 10 ³	24 25	2.1 2.4	CRM		Microcolumna de 20x2 mm de PTFE en un sistema FIA acoplado en línea	[232]
Cd(II) Mn(II) Ni(II)	Agua de lago	MWCNTs oxidados	ICP-AES	48 21 36	25	3.5 2.6 2.2	103 97.5 97.5 CRM	50	Microcolumna de 20x3 mm de PTFE rellena con 30 mg de CNTs	[230]
Cu(II) Co(II) Pb(II)	Agua, mejillones	SWCNTs oxidados	ICP-MS	39 1.2 5.4	50	4.8 5.2 3.9	97-106 104-108 96-105 CRM	40	Microcolumna de 20x3 mm de PTFE rellena con 20 mg de CNTs	[219]
Cu(II) Zn(II) Mn(II) Pb(II)	Vegetales	MWCNTs oxidados	FAAS	6.59 x 10 ³ 0.62 x 10 ³ 0.28 x 10 ³ 1.00 x 10 ³	20.3 14.2 20.6 15.4	2.6-4.7	95-105	3 meses de uso	Microcolumna de vidrio de 50x3 mm rellena con CNTs con un sistema FIA acoplado en línea	[233]

Tabla 8. (Continuación)

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD (ng L ⁻¹)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
Fe(III) Cu(II) Mn(II) Pb(II)	Agua mineral y consumo	MWCNTs brutos	FAAS	4.9 x 10 ³	20	<2.5	96-106		Microcolumna de vidrio 150x10 mm llena con 100 mg de CNTs	[235]
				6.5 x 10 ³			27-98			
				3.5 x 10 ³			96-100			
				8.0 x 10 ³			96-100 CRM			
Mn(II) Cr(III) Pb(II) Cd(II) Cu(II) Zn(II)	Agua (consumo, embalse y arroyos)	MWCNTs brutos y oxidados	ETAAS	38		0.9-3.4			SPE/cartucho de 6 mL de PP	[259]
				37		1.1-3.9				
				214		1.2-4.0				
				24		1.3-3.1				
				46		1.5-4.0				
				9		1.3-3.5				
Mn(II) Co(II) Ni(II)	Pelo, mejillones, agua consumo	Nanofibras de carbon oxidadas	ICP-MS	40	150	5.1	98	35	SPE/microcolumna de 20x3 mm de PTFE rellena con 20 mg de CNTs	[255]
				0.4		4.8	95			
				8		4.0	104 CRM			
MnO ₄ ⁻ Pb(II) Cu(II) Zn(II)	Agua (consumo, embalse y arroyo)	MWCNTs brutos	FAAS	0.71 x 10 ³		0.9-2.5,	81-100		SPE/cartucho de a 6 mL de PP lleno CNTs	[195]
				0.28 x 10 ³		1.5-4.1	84-99			
				0.46 x 10 ³		1.1-3.8	81-98			
				0.87 x 10 ³		1.0-3.9	81-99			
Ni(II) Pb(II)	Sedimentos de lago y lodos	MWCNTs brutos, oxidados y modificados	ETAAS	30	38	3.9	92.1-102.0	300	SPE/microcolumna de punta cónica rellena con 4 mg de CNTs en un sistema FIA	[257]
				10	40	0.5	CRM			
La Sm Eu Gd Tb Ho Yb	Agua(lago y mar) hojas de té	MWCNTs oxidados	ICP-AES	10	50	<6	98.2	50	SPE/microcolumna de 20x3 mm de PTFE	[229]
				57			101.5			
				4			96.3			
				15			100.6			
				9			97.4			
				15			95.5			
				3			94.4 CRM			

^aCRM: Exactitud determinada con Material de Referencia Certificado

2.9.3.1.2. Preconcentración de quelatos metálicos en el nanotubo

En búsqueda de una mejora en la selectividad, en otro grupo de métodos de aplicación de los CNTs en SPE, el ion metálico se quelata previamente mediante el uso de un ligando selectivo. Estos métodos optimizados para la extracción de especies metálicas como quelatos se presentan en la Tabla 9.

Un experimento de SPE-CNTs basado en la quelatación previa del ion metálico incluye los siguientes pasos:

- (i) La disolución que contiene el analito se ajusta al valor de pH deseado con una disolución reguladora (debe tenerse en cuenta que el pH de la muestra no sólo regula la estabilidad del complejo, sino que también influye en la eficacia de la adsorción).
- (ii) A continuación, se añade el reactivo complejante para formar el quelato metálico.
- (iii) La disolución obtenida, se pasa a través de la columna que contiene los nanotubos de carbono, a una velocidad de flujo adecuada de manera que el quelato formado quede adsorbido en la columna.
- (iv) Finalmente, los iones metálicos se recuperarán de la columna y del quelato haciendo pasar una disolución ácida a través de la columna.

La elección del agente quelatante debe realizarse teniendo en cuenta la constante de estabilidad del quelato, la cinética de la reacción de formación, la solubilidad en agua del ligando y del quelato, y la estabilidad del complejo a un amplio rango de pH. Puesto que el complejo formado es el que queda retenido en el nanotubo, es evidente que existen otras interacciones involucradas en la retención del quelato por el nanotubo de carbono, tales como interacciones π - π , fuerzas de van de Waals y enlaces de hidrógeno y enlaces covalentes coordinados (en comparación con las interacciones electrostáticas que tiene lugar en la retención del ion metálico puro) [204]. En estos métodos, la formación del quelato metálico constituye un paso crítico, por tanto, las condiciones para la formación de estos complejos deben ser cuidadosamente optimizadas. Es importante señalar además, que hay casos en los que es necesario usar ciertos disolventes orgánicos o mezclas de éstos con agua, para lograr la disolución del ligando, lo cual supone una desventaja.

La utilidad de estos métodos se demuestra en base a que, iones metálicos que no han sido retenidos directamente por los CNTs, son adsorbidos satisfactoriamente cuando forman

complejos previamente con ligandos orgánicos, en general, los ligandos de mayor éxito son aquellos que contienen grupos de azufre y nitrógeno. Las cantidades de ligando utilizadas para la formación del complejo dependen de la concentración del metal, la relación de masa CNTs/ligando, así como de la técnica analítica empleada. Como regla general, dentro de los niveles de metales ensayados, son suficientes 1-5 mg de ligando para llevar a cabo la formación del complejo. Sin embargo, en comparación con los métodos de extracción de metales no quelatados, se utilizaron cartuchos y columnas de mayor tamaño así como una masa de nanotubo de carbono más elevada (100-300 mg).

La extracción en fase sólida con quelatos metálicos es especialmente importante en especiación, y particularmente cuando sólo una especie puede ser extraída como complejo. En los estudios de especiación se ha demostrado útil el empleo del pirrolidinditiocarbamato de amonio (APDC); así López-García y col. [261] desarrollaron un método empleando este agente complejante para la especiación de As(III)-As(V)

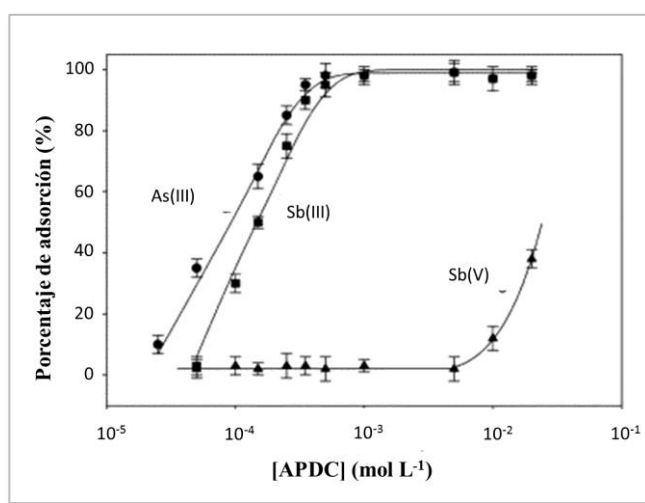


Figura 34. Efecto de la concentración de APDC. En la adsorción de As (III), Sb (III) y Sb (V) [261].

inorgánico y Sb(III)-Sb(V) en muestras de agua por ETAAS. Las especies trivalentes formaron un complejo con APDC y luego fueron retenidas en una microcolumna de MWCNTs. Después de la reducción de las formas pentavalentes se determinó el contenido total de As y Sb inorgánicos. En la Figura 34 se puede observar cómo afecta la cantidad de APDC en la adsorción de las diferentes especies metálicas. También se llevaron a cabo estudios de especiación con APDC de Cr(III) y Cr(VI) en agua y aguas residuales. En primer lugar, el Cr(VI)-APDC se extrajo mediante el uso de una columna de MWCNTs, y la determinación se realizó por FAAS [262]. Posteriormente, el Cr(III) fue oxidado con H₂O₂, y el mismo procedimiento se aplicó para determinar el cromo total. Wu y col. [199] también desarrollaron un método empleando la espectrometría de fluorescencia atómica de doble canal con generación de hidruro (HG-DC-AFS) para la especiación de arsénico y antimonio en muestras de agua. La estrategia incluyó la formación en línea de los complejos de APDC de

As(III) y Sb(III), la retención y la elución en una columna de SWCNTs y su posterior determinación. La concentración total de As y Sb se determinó mediante el mismo procedimiento después de la reducción del As(V) y Sb(V) con tiourea. El APDC también se ha aplicado en métodos multielementales: por ejemplo, los complejos de Cu, Cd, Pb, Zn, Ni y Co divalentes se emplearon para la determinación mediante FAAS a niveles de $\mu\text{g L}^{-1}$ [247].

En la Figura 35 se puede observar el efecto de la cantidad de APDC en la recuperación de estos metales. Otros ligandos empleados en la determinación multielemental con CNTs son la o-cresolftaleína complexona para Cu, Co, Ni y Pb (II) por FAAS [263], o el 4-(2-tiazolilazo) resorcinol (TAR) para Cu(II), Fe(III), Pb(II), Ni(II) y Cd(II) en aguas naturales [264].

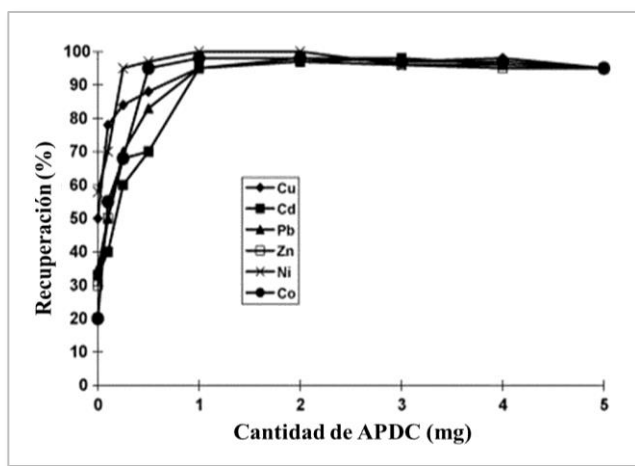


Figura 35. Efecto de la cantidad de APDC en la recuperación de distintos analitos en MWNTs (pH 2, N = 3) [263].

Las características analíticas obtenidas para los métodos desarrollados siguiendo esta estrategia fueron en todos los casos adecuadas, pero a pesar de ello, los factores de preconcentración han sido comparables a los logrados empleando la extracción directa del metal-CNTs. Por lo tanto, los procedimientos basados en la formación de complejos no implican en sí mismos un aumento de la sensibilidad. Sin embargo, la detección del metal después de la SPE se realizó, en la mayoría de los casos, mediante FAAS proporcionando LODs adecuados, en el rango de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} , a pesar de la simplicidad de la técnica.

En general, los métodos desarrollados estaban libres de interferencias, ya que para los niveles de concentración presentes normalmente en las muestras analizadas, los iones extraños no interfieren en las condiciones experimentales aplicadas. Por lo tanto, la formación del quelato de metal, previo a su extracción, mejora la selectividad de los métodos desarrollados. Este hecho se explica en base a que los iones metálicos no quelatados, que podrían suponer una posible interferencia, no se retienen en la columna de CNTs. Además, debe señalarse que la mayoría de estos métodos se han desarrollado utilizando nanotubos de carbono sin oxidar y, dado que no se aplicaron procedimientos de oxidación previos, la

retención del complejo formado por los CNTs sólo tiene lugar por fuerzas van der Waals e interacciones π - π . La ausencia de grupos oxigenados en las paredes laterales de los CNTs evitará la retención de metales no quelatados. La única interferencia publicada fue una disminución en la señal analítica de ETAAS para los complejos de As y Sb con APDC cuando Fe(III), Al(III) y Cr(VI) estaban presentes en un rango interferente/analito superior a 1000 [261]. Sin embargo, este efecto puede evitarse simplemente diluyendo la muestra.

La mejora en la selectividad con el empleo de metales quelatados previo a su extracción SPE con CNTs, se ha puesto de manifiesto en el tipo de muestras analizadas. Como puede verse en la Tabla 9, los métodos citados se utilizaron con éxito para la determinación de metales en muestras con matrices más complejas que el agua, tales como aguas residuales y contaminadas, aleaciones de metales, y diversos tipos de alimentos.

Para este tipo de metodología la precisión lograda en general ha sido apropiada ya que se obtuvieron valores de RSD inferiores al 5 %, a pesar del uso de microcolumnas o cartuchos hechos a medida en el laboratorio. Por otra parte, la exactitud también resultó satisfactoria ya que los estudios de recuperación de muestras enriquecidas y CRMs proporcionaron valores entre 91.5 y 106.5 %.

En cuanto a la reutilización de las columnas, se obtuvo una vida media de 30 a 50 ciclos [199,263,265], llegando, en un solo caso, a un elevado uso de hasta 250 ciclos [247]. A pesar de las ventajas comentadas anteriormente y los adecuados resultados obtenidos, hay que señalar que estos métodos aumentan la complejidad de los procedimientos analíticos y el tiempo requerido de análisis.

Tabla 9. Aplicaciones de los CNTs brutos y oxidados como adsorbentes en SPE para la determinación de quelatos metálicos en diferentes muestras.

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
Ag(I)	Agua	MWCNTs oxidados	FAAS	0.43	160	2.43	96-99		MBT/ Cartucho de Polipropileno relleno con 100 mg de CNTs	[266]
Cd(II)	Arroz	MWCNTs brutos	FAAS	3.3	40	0.43-1.42	95-110		PAN/Micro-columna de vidrio de 100 x 10 mm con 150 mg de CNTs	[267]
Pb(II)	Arroz	MWCNTs brutos	FAAS	0.01	30	1.1			1,5 difenil tiocarbazon (DZ)/ Micro-columna de vidrio 100x10 mm con 150 mg de CNTs	[268]
Rh(III)	Agua, aleación Pt-Ir, muestra sintética de Rh	MWCNTs oxidados	FAAS	0.02 0.05	120	0.97	96.1-104.6	50	PAN/Punta de tubo de vidrio relleno con 20 mg de CNTs	[265]
As(III,V) Sb(III,V)	Agua (consumo mineral, mar, y río)	MWCNTs brutos	ETAAS	3.8×10^{-3} 2.1×10^{-3}	250	3.5 3.7	94-106 94-102		APDC/Micro-columna de vidrio de 200x20 mm con 20 mg de CNTs	[261]
	Agua natural	SWCNTs brutos	HG-DC-AFS		25.4 24.6	4.2 4.8	91.5-106.5 94.0-102.6 CRM ^a	30	APDC/SPE con una micro-columna formada por dos puntas de micro-pipeta en un sistema FIA en línea.	[199]
Cr(III,VI)	Agua (río y residual)	MWCNTs brutos	FAAS	0.90 Cr(VI)	100	3.3-4.8 2.1-4.2	97-98 96-99		APDC/columna de vidrio de 100x10 mm con 300 mg de CNTs	[262]
Cu(II) Co(II) Ni(II) Pb(II)	Agua (consumo, mineral)	MWCNTs brutos	FAAS	1.64 5.31 5.68 3.52	40		94.7-104.0 CRM	50	o-Cresolftaleína complexona/ micro-columna de vidrio de 150x10 mm con 200 mg de CNTs	[263]
Cu(II) Cd(II) Pb(II) Zn(II) Ni(II) Co(II)	Agua y alimentos	MWCNTs brutos	FAAS	0.30 0.45 0.60 0.35 0.57 0.40	80	< 5	95-98	250	APDC/micro-columna de vidrio de 100x10 mm con 300 mg de CNTs	[247]
Cu(II) Fe(III) Pb(II) Ni(II) Cd(II)	Agua natural y vegetales	DWCNT puros	FAAS	2.6 3.1 1.7 0.7 4.4	40	< 7.0	94.2-96.6 97.1-98.4 96.1-99.2 95.0-98.1 93.3-99.1 CRM		TAR/Disco con 50 mg de CNTs	[264]

^aCRM: Exactitud determinada con Material de Referencia Certificado

2.9.3.2. Aplicaciones de los nanotubos de carbono funcionalizados

En un intento de mejorar todavía más la selectividad en el proceso de extracción, se han empleado nanotubos de carbono modificados tras la unión de una serie de grupos funcionales a los mismos. El uso de nanotubos de carbono funcionalizados implica su modificación por dos métodos:

- a) La unión de diferentes grupos funcionales a través de reacciones químicas en los defectos.
- b) La vinculación de diversas moléculas inorgánicas u orgánicas (polímeros, surfactantes, óxidos metálicos, etc.) a través de interacciones físicas.

2.9.3.2.1. CNTs funcionalizados por reacciones químicas en los defectos

La oxidación de los nanotubos introduce grupos que contienen oxígeno en los extremos y en la pared lateral de los nanotubos que debido a sus características químicas pueden ser aprovechados para la unión de diferentes grupos funcionales (como agentes quelatantes y óxidos metálicos), pequeñas biomoléculas (tales como aminoácidos o péptidos) y polímeros unidos mediante enlaces covalentes [269].

En una revisión recientemente publicada, Sitko y col. [228] han discutido diversas estrategias para la modificación química de los nanotubos de carbono, concluyendo que una forma de sintetizar nuevos adsorbentes con alta capacidad de adsorción y selectividad precisa del adecuado tratamiento superficial de los CNTs. Mediante estos procedimientos, además de conseguir una mejora de la selectividad, también se incrementa la solubilidad de los CNTs en disolventes polares. Además, dado que el grupo funcional se une químicamente a la superficie de nanotubo, se consigue mejorar su estabilidad, por lo cual cabe esperar que los nanotubos funcionalizados sean más eficaces para la extracción de metales mediante SPE.

Se han optimizado diferentes métodos para determinar iones metálicos con CNTs funcionalizados. Para su estudio, los métodos empleados se clasificaron en tres grupos: (A) aquellos en los que los grupos funcionales orgánicos o inorgánicos fueron unidos covalentemente a la superficie de los nanotubos de carbono, (B) aquellos en los que se utilizaron diversas biomoléculas para unirlos a los CNTs, y (C) los basados en la unión de polímeros injertados. En la Tabla 10 se presenta un resumen de estas aplicaciones que son tratadas en las tres subsecciones siguientes.

A) CNTs modificados por la unión covalente de diversos grupos funcionales

En la bibliografía se ha descrito la preparación de diferentes nanotubos de carbono modificados mediante la unión de diversos grupos orgánicos e inorgánicos, siguiendo para ello varias estrategias de síntesis.

Por ejemplo, se han empleado diferentes ligandos orgánicos para la modificación de las paredes externas de los CNTs que posteriormente son usados como adsorbentes en SPE. Entre ellos cabe destacar: 1-(2-piridilazo) 2-naftol (PAN) para de la determinación de Co [270], Mn [271], Zn [272], así como Pb, Cd y Ni [273]; N,N'-bis(2-hidroxibenciliden)-2,2'(aminofeniltio)etano (NBHAE) para la determinación de Pd [274] y de Au y Mn [275]; 2-amino benzotiazol (ABT) para la determinación de Pb [276]. También se han modificado MWCNTs con etilendiamina (EDA) (Figura 36) para la preconcentración y separación de Cr, Fe y Pb [277]; tris(2-aminoetil)amina (TAA) para la determinación de Pb [278]; tiosemicarbazida (TSC) [279] y ácido iminodiacético (IDA) [280] para As, Co, Cd, Cr, Cu, Pb, V y Zn; y 5-(4-dimetilamino benciliden)-rodamina (5,4-DABR) para la concentración de paladio [281].

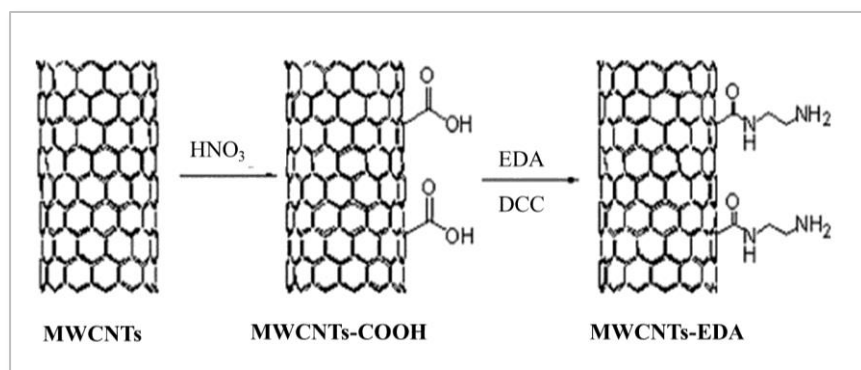


Figura 36. Esquema de la síntesis de MWCNTs modificados con EDA para la preconcentración y separación de Cr, Fe y Pb en muestras biológicas y en agua [277].

En los procesos de SPE también se han utilizado sistemas sinérgicos, constituidos por mezclas extractantes de ligandos ácidos y neutros. Así por ejemplo, se ha publicado un procedimiento para la preconcentración y separación de Co, Ni y Zn en agua de consumo, aguas industriales y residuales, utilizando MWCNTs impregnados con ácido di(2-etilhexilo)fosfórico (D2EHPA) y óxido de trioctilfosfina (TOPO) [282].

Los procedimientos para sintetizar nanotubos de carbono funcionalizados deben llevarse a cabo mediante un proceso rápido y sencillo, evitando así las etapas de purificación posteriores. Por ello, los métodos analíticos desarrollados siguiendo estos procedimientos se han aplicado con éxito para la determinación de bajos niveles de iones metálicos empleando como técnicas de medición FAAS, ETAAS e ICP (AES y MS) [270-282]. Los valores de los factores de la preconcentración alcanzados están en general en el rango de 100-600, mejorando los resultados en relación con los obtenidos para la extracción con quelatos metálicos y con la preconcentración directa en nanotubos brutos y oxidados. Teniendo en cuenta las características de los CNTs modificados químicamente utilizados como adsorbentes, cabe esperar un bajo nivel de interferencias. Debido a la mejora de la selectividad por el uso de nanotubos modificados, los estudios de interferencias llevados a cabo (en concentraciones de interferencia que excedieron entre 100 y 2000 veces la del analito) demostraron, en general, la ausencia total de interferencias producidas por otros iones metálicos. Otra ventaja importante de esta estrategia es la estabilidad del adsorbente obtenido. Debido al enlace covalente establecido entre el ligando y el nanotubo, se han observado mejoras evidentes en la regeneración del material adsorbente. Este hecho constituye un importante beneficio en cuanto a material, tiempo y costes. También se lograron valores apropiados para la precisión ($RSD < 4 \%$) y la exactitud (entre 94-102 %).

La funcionalización de nanotubos de carbono también se ha llevado a cabo mediante compuestos inorgánicos como los óxidos de metales. El efecto sinérgico de los óxidos metálicos y los CNTs conduce a nanomateriales que poseen las propiedades de ambos, y algunas propiedades nuevas debido a los efectos de cooperación entre ellos. El uso de nanotubos de carbono recubiertos de óxidos de metal como nuevo material adsorbente presenta ciertas ventajas, tales como una mayor capacidad de adsorción, una área superficial más elevada y un mejor grado de orientación, en comparación con el uso de simples óxidos metálicos. Además, los adsorbentes a base de CNTs-óxido metálico se relacionan con bajas presiones en la columna de SPE; por lo que para la carga de la muestra se pueden emplear mayores velocidades de flujo. Una excelente revisión acerca de los diferentes métodos para sintetizar materiales de CNT-óxido de metal, sus características y aplicaciones se puede consultar en el trabajo de Hu y Guo [283].

Para recubrir los nanotubos de carbono mediante este tipo de funcionalización, se han utilizado diferentes óxidos metálicos (SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 , MnO_2 , RuO_2 , CeO_2 , SnO_2 , etc.). La preparación de este nanomaterial se llevó a cabo por precipitación del compuesto de metal en una suspensión de CNTs, seguida de secado y pirólisis [288]. A pesar de las

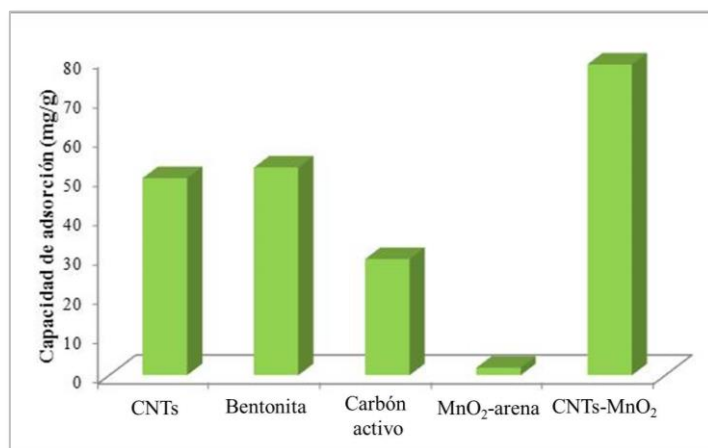


Figura 37. Comparación de la capacidad de adsorción de Pb(II) por diferentes adsorbentes [285]

prometedoras expectativas de este procedimiento, hasta el momento, sólo se han descrito dos aplicaciones analíticas basadas en SPE con nanotubos modificados con óxidos metálicos. En 2007, Huang y col. [284] prepararon y caracterizaron el nano-compuesto MnO_2 -MWCNTs demostrando su idoneidad para la eliminación de Pb(II) de disoluciones acuosas [285] (Figura 37). Desde entonces este nanocompuesto se ha aplicado como adsorbente para la determinación mediante ETAAS de iones Pb(II) y Cd(II), sin interferencia de otros iones coexistentes como Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Pd(II) y Pt(IV) [286]. En el segundo de los métodos de determinación publicados siguiendo esta estrategia, se emplearon nanotubos modificados con alúmina (Al_2O_3 -MWCNTs) para la preconcentración de Ni, mediante un sistema de análisis por inyección en flujo (FIA), y su posterior determinación por FAAS [287]. En ambos casos, además de los buenos resultados obtenidos, se encontraron dos ventajas adicionales en la utilización de nanocompuestos basados en MnO_2 y Al_2O_3 . En primer lugar, la alta estabilidad del adsorbente, que puede llegar a alcanzar 100 y 200 ciclos de adsorción-elución sin pérdida de capacidad de adsorción; y segundo, la ausencia de un efecto de hinchamiento, permitiendo trabajar a altas velocidades de flujo (hasta 10 mL min^{-1}) sin fugas ni obstrucciones de la columna de FIA.

B) CNTs modificados por unión covalente de diversas biomoléculas

Para la funcionalización de los nanotubos de carbono oxidados también se han empleado también pequeñas biomoléculas, como aminoácidos o proteínas. El vínculo entre la biomolécula y el nanotubo se produce mediante un enlace amida covalente. Entre los aminoácidos empleados para este tipo de funcionalización se encuentran la L-tirosina, la L-cisteína y la L-alanina. Pacheco y col. [288] estudiaron la capacidad de adsorción del aminoácido L-tirosina inmovilizado sobre MWCNTs para la extracción de iones de Cu, Ni, Zn y Co en muestras de agua. El mejor rendimiento se obtuvo para la extracción de Co(II), con un factor de preconcentración de 180 (que es el doble del obtenido con MWCNTs sin L-tirosina). Estudios similares evaluaron el uso de L-tirosina-CNTs para la determinación y especiación de talio mediante ETAAS [289]. En cuanto a la L-cisteína (aminoácido que contiene un grupo tiol), se ha unido covalentemente a MWCNTs obteniendo un nuevo material sintético para la adsorción de Cd en una amplia variedad de muestras biológicas y ambientales [290]. En la Figura 38 se puede ver el esquema de síntesis empleado en este caso.

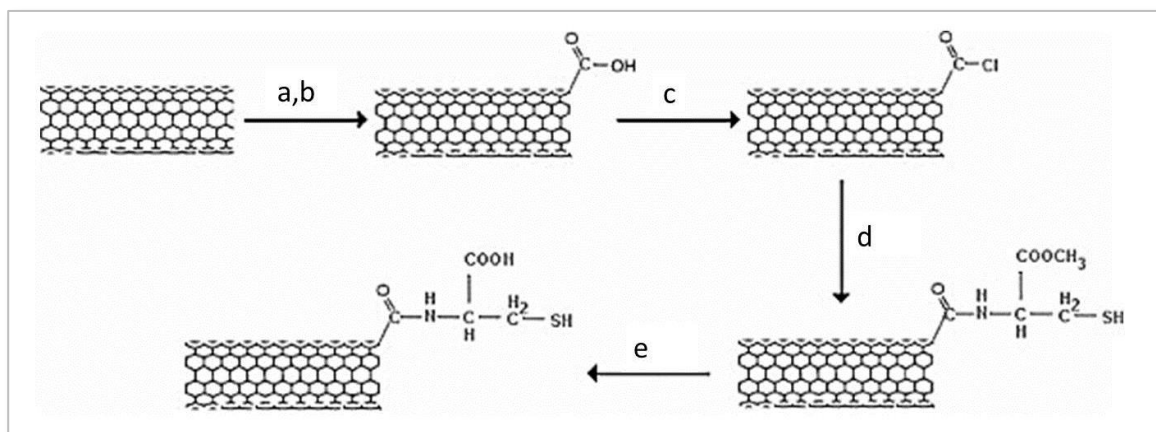


Figura 38. Esquema para la síntesis de MWCNTs funcionalizados con L-cisteína [290].

Experiencias anteriores habían demostrado que la adsorción de Cd por CNTs oxidados disminuye enormemente cuando aumenta la fuerza iónica, sin embargo, cuando se emplea L-cisteína-CNTs, no se observa este efecto, debido a la formación de un complejo estable a través de los grupos tiol. Además, otra ventaja de este aminoácido es su alta selectividad, que ofrece una mejora en la concentración tolerable de iones coexistentes de 1600 veces, en comparación con el uso de MWCNTs oxidados sin L-cisteína. En base a los resultados obtenidos, los autores concluyeron que los MWCNTs con aminoácidos inmovilizados ofrecen una prometedora selectividad para futuras aplicaciones. Sin embargo, estos resultados deben

ser confrontados con otros trabajos que presentan resultados menos favorables, como son el empleo de L-alanina-MWCNTs para la determinación de Cd mediante FIA-SPE-ICP-AES [291] o para la determinación de Ni y Pb mediante ETAAS [257]. En ambos casos, el rendimiento y la capacidad de extracción del nuevo material fue peor en comparación con los resultados obtenidos con MWCNTs no modificados.

Se han aplicado otras biomoléculas más complejas para funcionalizar los nanotubos de carbono; así, Liu y col. [292] sintetizaron y caracterizaron un nuevo material, MWCNT-6His-proteína etiquetada, para la extracción selectiva de Cu (II) y Ni (II) mediante SPE. Ambos iones fueron previamente quelatados con ácido iminodiacético (IDA), y los correspondientes quelatos fueron retenidos usando un sistema FIA-SPE con una microcolumna que contenía MWCNT-6His-proteína etiquetada. La elución se consiguió empleando una disolución de imidazol-HCl 0.2 M y la determinación se llevó a cabo por FAAS. Con el método desarrollado se consiguieron unas características analíticas apropiadas, y unos excelentes resultados en cuanto a la mejora de la selectividad, con un aumento de las concentraciones tolerables de iones coexistentes de 1800 a 20000 veces. A pesar de estos resultados exitosos, es preciso indicar que serían necesarios más estudios para evaluar la idoneidad de los CNTs modificados con biomoléculas y aminoácidos.

C) CNTs modificados por la unión covalente de polímeros

Diversos tipos de polímeros se pueden unir a los CNTs con varios objetivos tales como: mejorar la solubilidad o dispersividad de los nanotubos en disolventes polares modificando las propiedades hidrofóbicas, mejorar la selectividad respecto a las especies metálicas y ampliar su compatibilidad con otros materiales. Estudios recientes relativos a CNTs funcionalizados por adición de polímeros [293], demuestran que los sitios activos con estructuras tridimensionales generadas por este tipo de modificación, dan lugar a materiales nanocompuestos adecuados para la eliminación y concentración de metales en diferentes tipos de muestras ambientales. Por lo tanto, la combinación polímeros-CNTs también se empleó como material de SPE con fines analíticos. En general, se utilizaron dos procedimientos para preparar los polímeros-CNTs: (a) mediante el uso de reacciones en disolución entre los CNTs y los monómeros, basadas en la funcionalización química por defecto, seguido posteriormente de polimerización; (b) mediante el uso de la técnica de injerto inducida por plasma (PIGT).

La técnica PIGT, también llamada polimerización por plasma, se puede describir (por ejemplo en el caso de un plasma de N_2) como sigue. Durante el proceso de descarga de plasma, especies de nitrógeno activo (N^*) reaccionan con los nanotubos produciendo en la superficie de los mismos especies activas de carbono ($-C^*$), además de grupos hidroxilo y carboxilo. Una vez que se consigue la activación de los CNTs por plasma, las superficies de los mismos son expuestas a los monómeros, éstos se polimerizan y se unen a los nanotubos produciendo una fina capa alrededor de los mismos. Se ha sugerido que son las especies C^* las que inducen la polimerización de los monómeros sobre las superficies de los CNTs. Una explicación más detallada del proceso PIGT se puede encontrar en los trabajos de Shao y col. [294] y Ren y col. [295]. La técnica PGIT presenta varias ventajas frente el método químico en disolución: (i) La polimerización mediante plasma es un procedimiento libre de disolventes por lo que se evita el uso de grandes cantidades de productos químicos perjudiciales para el medioambiente y el uso de condiciones extremas; (ii) el polímero injertado se introduce en la superficie de los CNTs preservando las propiedades de los nanotubos brutos, y (iii) el monómero no se conserva necesariamente durante el proceso de polimerización.

Hasta el momento, se han encontrado pocas referencias de aplicaciones analíticas para la determinación de metales utilizando técnicas SPE basadas en CNTs modificados mediante polímeros injertados. En estas aplicaciones, a pesar de las ventajas del procedimiento PGIT, la síntesis del nanomaterial adsorbente se llevó a cabo mediante reacciones químicas de defecto. Se realizó la adsorción, separación y determinación mediante FAAS de iones de $Au(III)$ por medio de material adsorbente preparado con polianilina (PANI) y poli(3,4 etilendioxitiofeno) (PEDOT) [296]. Bajo las condiciones optimizadas el método no presentó interferencias significativas. En la Figura 39 se pueden observar las imágenes SEM de los CNTs recubiertos con los polímeros PANI y PEDOT.

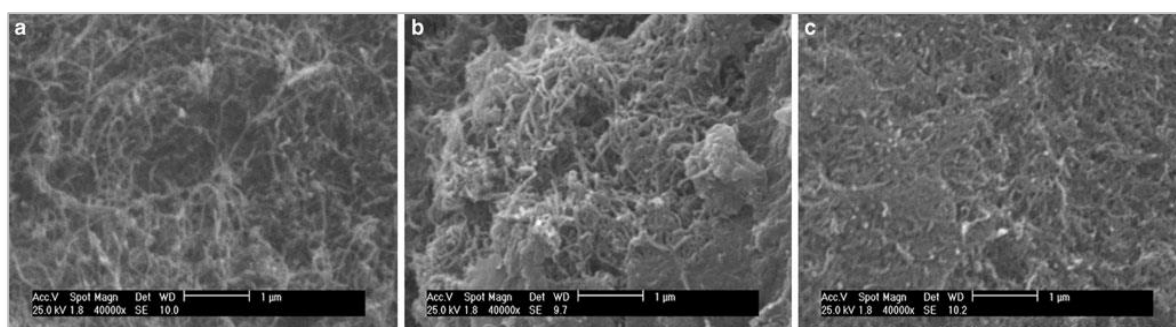


Figura 39. Imágenes SEM de MWCNTs: A) MWCNTs / PANI, B) MWCNTs / PEDOT y C) nanocompuesto a partir de polímeros conductores orgánicos y MWCNTs para la adsorción y separación de iones de $Au(III)$ [296].

Se desarrolló también un nanocompuesto basado en MWCNTs y poli(2-amino tiofenol) (P2AT) para la extracción en fase sólida de cadmio y plomo a niveles traza en muestras ambientales [297]. El método de determinación SPE-FAAS optimizado mostró excelentes niveles de precisión y exactitud, elevados factores de concentración, y se alcanzó la suficiente sensibilidad para la medida de ambos analitos en muestras ambientales y alimentarias.

Un nuevo procedimiento, que aumenta aún más la selectividad de la SPE-CNTs, es el uso de polímeros de impronta molecular (MIP) en combinación con nanotubos de carbono. El proceso implica tres etapas: (i) la formación de complejos de metal con un ligando polimerizable (molde); (ii) la polimerización: donde el molde se mezcla con un agente entrecruzante, el iniciador y los CNTs en un disolvente adecuado; y (iii) la eliminación del molde después de la polimerización [190]. La eliminación de la molécula molde deja unos sitios de unión que son complementarios del analito en forma y orientación, y contribuyen al reconocimiento molecular del mismo. El fundamento del reconocimiento molecular se puede observar en la Figura 40.

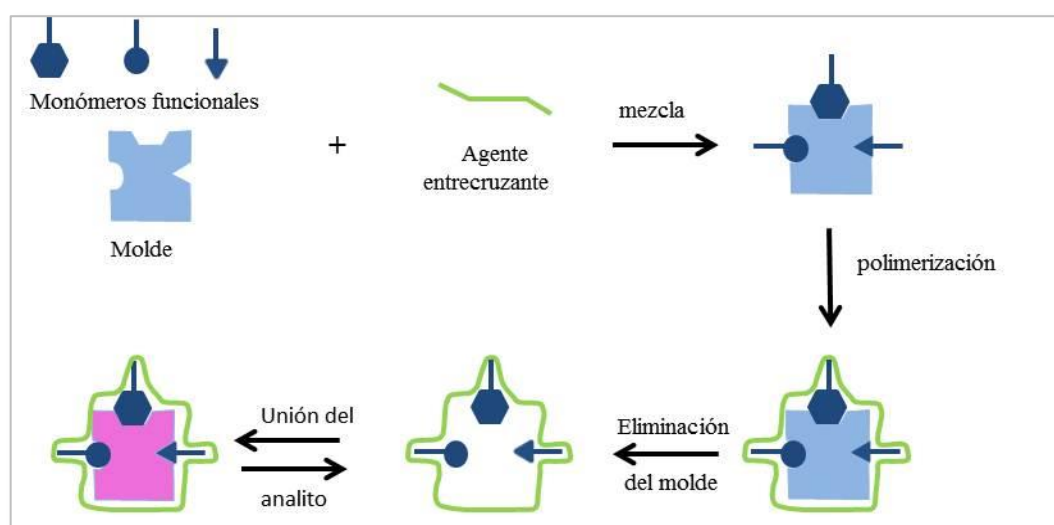


Figura 40. Procedimiento no covalente para la síntesis de MIP. Adaptado de [190].

El adsorbente modificado (MIP) resultante, consiste en un material macroporoso que contiene cavidades con funcionalidad química y estructura tridimensional específica para el analito. Así se obtiene una selectividad muy alta, debido a que el material adsorbente es capaz de reconocer el analito en muestras de matriz compleja [298].

Zhang y col. [299] desarrollaron un nuevo método usando esta estrategia para la determinación de galio en cenizas por FAAS. Estos autores sintetizaron un nuevo material adsorbente, compuesto de nanotubos de carbono de pared múltiple impreso con Ga(III)-8-hidroxiquinolina (Ga(III)-8-HQ), mediante el empleo de la técnica de impresión de superficie. El Ga(III)-8-HQ es la molécula modelo, y el ácido metacrílico será el monómero para la polimerización, el etilenglicolmetacrilato es el agente entrecruzante, y se utilizó 2,2-azobisisobutironitrilo como iniciador. Una vez obtenido el material MIP-CNTs, la eliminación del molde se llevó a cabo mediante una mezcla compuesta por ácido acético y etanol 9:1 (v/v). La capacidad de adsorción del material MIP-CNTs en comparación con un adsorbente no impreso se vio aumentada en un 50.4 %, hecho que se explica por un aumento en la constante de formación, así como por un aumento en los sitios de unión. Este método optimizado se aplicó con éxito para la determinación de galio en cenizas, a niveles de ng L^{-1} y sin interferencias de otros iones similares unidos a la 8-HQ, tales

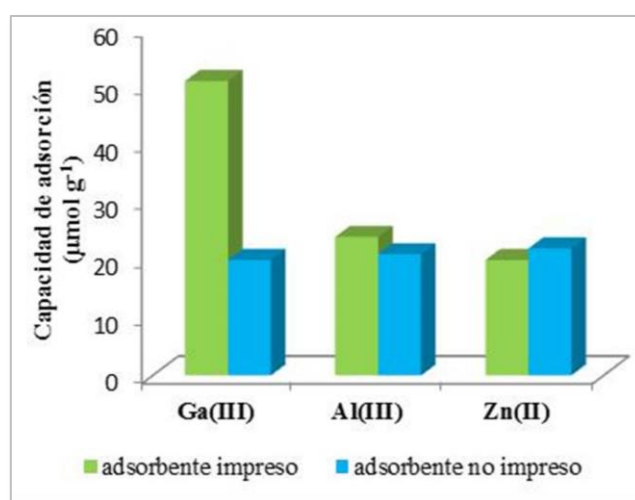


Figura 41. Adsorción selectiva de Ga(III), Al(III) o Zn(II) sobre nanotubos de carbono impresos con Ga(III)-8-HQ y sobre nanotubos de carbono no impresos [299].

como Al(III) y Zn(II), tal y como se puede observar en la Figura 41. A pesar del bajo número de aplicaciones desarrolladas hasta este momento, en los próximos años se espera un gran aumento de los métodos basados en nanocompuestos MIP-CNTs debido a la alta selectividad obtenida con estos materiales. Además, otras ventajas muy reseñables de estos materiales son la buena estabilidad térmica y química, la alta resistencia mecánica, la larga durabilidad en condiciones de calor y presión, y la posibilidad de su uso en medios químicos agresivos.

Tabla 10. Aplicaciones de CNTs funcionalizados por métodos químicos usados como adsorbentes SPE para la determinación de especies metálicas en diferentes muestras.

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
Co(II)	Agua residual y vegetales	MWCNTs modificados	FAAS	0.55	300	1.63	98.7-101.1 CRM ^a	30	PAN/mini-columna de vidrio rellena con 40 mg de MWCNTs	[270]
Pb(II)	Agua (río, lago, consumo) y sedimentos	MWCNTs modificados	ICP-AES	0.27	100	1.6	96.8-100.4 CRM	10	ABT/mini-columna PTFE rellena con 40 mg de MWCNTs	[276]
	Agua (río y consumo)	MWCNTs modificados	ICP-AES	0.32	60	3.5	>95		TAA/mini-columna de 50x9 mm rellena con 30 mg de MWCNTs	[278]
Pd(II)	Polvo carretera, agua residual	MWCNTs modificados	FAAS	0.3	200	2.73	98 CRM	20	5,4-DABR/tubo de vidrio con extremo tipo embudo con 40 mg MWCNT	[281]
	Agua (pozo y consumo)	MWCNTs modificados	FAAS	6	600	2.43	96-102		NBHAET/tubo de vidrio con extremo tipo embudo de 80x5 mm con 40 mg MWCNTs	[274]
Mn(II)	Aceros, agua (río, consumo y pozo)	MWCNTs modificados	FAAS	0.058	100	0.41	97.9-101.6	50	PAN/tubo de vidrio con extremo tipo embudo con 20 mg MWCNTs	[271]
Zn(II)	Pimienta, pelo, hojas de té, sedimentos, partículas emitidas por vehículos	MWCNTs modificados	FAAS	0.07×10^{-3}	250	1.20	97.6-100 CRM	30	PAN/tubo de vidrio con extremo tipo embudo de 80x10 mm con 30 mg MWCNTs	[272]
Pb(II) Cd(II) Ni(II)	Muestras biológicas y agua	MWCNTs modificados	FAAS	0.32×10^{-3} 0.17×10^{-3} 0.04×10^{-3}		1.7 1.5 1.2			PAN	[273]
Au(III) Mn(II)	Agua (río y pozo), aguas residuales y aceros	MWCNTs modificados	FAAS	0.03 0.01	250	0.83 0.61	94-102 94-102 CRM		NBHAET/tubo de vidrio con extremo tipo embudo de 80x10 mm con 40 mg MWCNTs	[275]
Cr(III), Fe(III) Pb(II)	Muestras biológicas, agua río, y sedimentos	MWCNTs modificados	ICP-AES	0.24 0.19 0.33	200	2.7 3.0 1.9	99.1-102 99.6-99.8 98.9-99.4 CRM		EDA/mini-columna PTFE rellena con 50 mg de MWCNTs	[277]

Tabla 10. (Continuación)

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
V(V) Cr(VI) Pb(II) Cd(II) Co(II) Cu(II) As(III)	Muestras biológicas (pescado, camarón)	MWCNTs modificados	ICP-MS	1.3×10^{-3} 1.2×10^{-3} 0.70×10^{-3} 0.40×10^{-3} 2.5×10^{-3} 3.4×10^{-3} 0.79×10^{-3}	66-101	4.0 2.6 1.0 3.7 3.9 3.4 2.6	96-101 CRM	40	IDA/micro-columna PTFE de 20x4 mm conteniendo 20 mg de MWCNTs	[280]
Pb(II) Cd(II)	Pelo, agua (río y embalse)	MWCNTs modificados	ETAAS	4.4×10^{-3} 1.5×10^{-3}	100	3.2 2.5	97.7 109.1 CRM	100	MnO ₂ /columna de vidrio de 20 x 2 mm rellena con 50 mg de nano-compuesto	[286]
Ni(II)	Agua (mineral y río)	MWCNTs modificados	FAAS	4.1	20.9	4.7-6.3	95.7-99.1	200	Al ₂ O ₃ /columna de PVC de 50x10 mm rellena con 50 mg de nano-compuesto	[287]
Co(II)	Agua mineral	MWCNTs modificados	FAAS	50×10^{-3}	180		102 CRM		L-tirosina/micro-columna cónica 10 x 0.5-3 mm rellena con 10 mg de MWCNTs	[288]
Tl (III, Total)	Agua de consumo	MWCNTs modificados	ETAAS	3×10^{-3} 150×10^{-3}	40	3.4	98-103		L-tirosina /micro-columna cónica 40x1.5-4.5 mm rellena con 10 mg de MWCNTs	[289]
Cd(II)	Pelo, arroz, té, suelos contaminados	MWCNTs modificados	FAAS	0.28	33	1.6	91.1-105.2 CRM		L-cisteína/micro-columna cónica 10 x 1-4 mm rellena con 10 mg de MWCNTs	[290]
Cu(II) Ni(II)	Pelo, té, suelos	MWCNTs modificados	FAAS	0.31 0.63	29 28	2.4 2.5	93.1-98.5 90.0-102.3		MWCNT-6His-proteína etiquetada/micro-columna PTFE 15 x 2 mm rellena con 15 mg de MWCNTs	[292]
Au(III)	Agua de consumo, suelos	MWCNTs modificados	FAAS	0.3×10^{-3} PANI 0.5×10^{-3} PEDOT	400 PANI 350 PEDOT		95.0-101.1 CRM		PEDOT, PANI/ columna de vidrio de 120x20 mm con 30 mg de nano-compuesto	[296]
Cd(II) Pb(II)	Pescado, sedimentos	MWCNTs modificados	FAAS	0.3 1.0	282 304	2.4 3.2	97.2-101.0 98.0-100.9	7	P2AT/columna de vidrio de 120x20 mm con 100 mg de nano-compuesto	[297]
Ga(III)	Cenizas	MWCNTs modificados	FAAS	3.03×10^{-3}	43	4.71	87.3-94.5		Ga(III)-8- impreso-CNT/columna SPE con 200 mg de nano-compuesto	[299]

^aCRM: Exactitud determinada con Material de Referencia Certificado

2.9.3.2.2. CNTs funcionalizados mediante interacciones físicas

Las interacciones físicas constituyen otra forma de obtener nanomateriales funcionalizados, de manera no covalente. En ellas, los nanotubos de carbono y los grupos funcionales se unen por medio de fuerzas de van der Waals, interacciones π - π o fuerzas electrostáticas. Estos procedimientos presentan ciertas ventajas sobre los métodos químicos ya que evitan el uso de ácidos fuertes y/u oxidantes y evitan daños en la estructura de los CNTs. Estos hechos preservan la integridad de los nanotubos, previenen la rotura en fragmentos más pequeños y mantienen sus propiedades mecánicas, eléctricas y térmicas. Sin embargo, la estabilidad de los nanomateriales modificados físicamente es peor en comparación con los obtenidos por reacciones químicas de defecto, en las que se establece un enlace covalente entre la superficie del nanotubo y el grupo unido. En esta sección se describen los diferentes métodos de determinación de metales mediante espectrometría atómica acoplada a la SPE utilizando nanotubos de carbono funcionalizados físicamente por: A) envoltura con un polímero, B) adsorción de tensioactivos y C) adsorción de bacterias. Las aplicaciones analíticas de este tipo de materiales se resumen en la Tabla 11.

A) CNTs modificados por envoltura de polímero

Se ha propuesto la preparación y el uso de nanocompuestos de quitosano-MWCNTs para la eliminación de especies metálicas en agua [300,301]. El quitosano (poli- β (1,4)-2-amino-desoxi-D-glucosa) es un polisacárido catiónico biocompatible y biodegradable, que presenta una gran tendencia a ser adsorbido por los MWCNTs. El nanocompuesto sintetizado se demostró que es adecuado para la extracción de Ni(II), Zn(II), Cd(II) y Cu(II) en disoluciones acuosas. Sin embargo, a pesar de las buenas perspectivas de este enfoque, hasta el momento, en la bibliografía no existe información sobre métodos de determinación analíticos mediante SPE basados en el uso de CNTs modificados físicamente por envoltura de polímero como adsorbente.

B) CNTs modificados por adsorción de tensioactivos

En los últimos años, en diferentes publicaciones se ha evaluado el uso de diversos agentes tensioactivos unidos a CNTs, y el posterior uso del material nanocompuesto obtenido para la concentración de especies metálicas en varias aplicaciones.

El dodecilmenceno sulfonato de sodio (SDBS) es un ejemplo de tensioactivo aniónico utilizado con este objetivo. De esta manera, se ha propuesto su combinación con MWCNTs para la eliminación de Ni en aguas residuales [302]. Las moléculas de surfactante adsorbidas sobre la superficie de los MWCNTs provocan una atracción entre los grupos aniónicos (de cabeza) y los cationes. Con este método, se mejoró notablemente la adsorción de níquel en comparación con el uso de nanotubos sin SDBS. Así mismo, este procedimiento puede emplearse también para la extracción de este tensioactivo en aguas contaminadas.

Otro ejemplo de este tipo de funcionalización es el empleo del cloruro de cetil trimetil amonio (CTAC), propuesto por Li y col. [303] para desarrollar un nanocompuesto para la extracción en fase sólida de As y su posterior determinación por HG-AFS. En este caso, la preparación del material MWCNTs-CTAC implica la oxidación previa de los nanotubos y la adición posterior de CTAC. Las

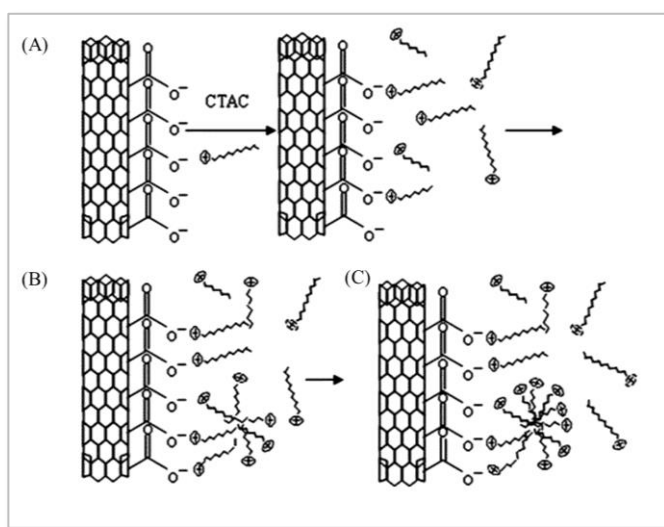


Figura 42. Proceso de adsorción del tensioactivo (CTAC) sobre la superficie de los CNTs [303]

interacciones hidrófobas e iónicas conducen a la formación de agregados de micelas y hemimicelas, que se comportan como un nuevo tipo de adsorbente para SPE de tamaño nanométrico. En la Figura 42, puede observarse el proceso de adsorción del tensioactivo sobre la superficie de los CNTs. Este método ha sido utilizado para separar arsénico en muestras de agua ambientales obteniendo unas recuperación (94.0-104.3 %) y precisión (RSD = 5.3 %) adecuadas. Sin embargo debido a las características del adsorbente, es de esperar una selectividad más baja que en los métodos anteriores basados en ligandos unidos químicamente.

Aunque aún no se ha estudiado, es de esperar que las columnas de CNTs-tensioactivos no puedan ser reutilizadas un número elevado de veces, ya que el tensioactivo se extrae parcialmente con la disolución empleada para la regeneración. Después de un número dado de ciclos de adsorción-elución es probable que la concentración del tensioactivo alcance valores

por debajo de la concentración micelar crítica, por lo que la columna podría perder gran parte de su capacidad de adsorción, suponiendo una desventaja en el empleo de este tipo de interacción física con tensioactivos en la funcionalización de los CNTs.

C) CNTs modificados por adsorción de bacterias

Es sabido que las trazas de metales son fácilmente adsorbidas por microorganismos tales como musgos, bacterias o algas y que la adsorción de metales por estos microorganismos puede tener lugar de dos maneras:

- (i) Activamente, a través de una lenta actividad dependiente del metabolismo del microorganismo, llamada bioacumulación.
- (ii) De forma pasiva, a través de una actividad rápida independiente del metabolismo, llamada bioadsorción.

Este último mecanismo ha sido utilizado con éxito para la preconcentración de metales, mediante la inmovilización de diversos microorganismos en una amplia variedad de soportes tales como Amberlita XAD-4, gel de sílice, vidrio de poro controlado, espuma de poliuretano, etc. Una excelente revisión con respecto a este enfoque ha sido publicada recientemente por Pacheco y col. [304]. De su lectura se puede concluir que la inmovilización ofrece diversas ventajas sobre el uso de microorganismos libres, entre las que destacan la facilidad del procedimiento de tratamiento, la estabilidad del material de adsorción y su largo tiempo de uso. En cuanto a este aspecto, los CNTs también han sido considerados como un soporte adecuado para la inmovilización de microorganismos.

En 2008, Tuzen y col. [305] estudiaron la capacidad de la *Pseudomona aeruginosa* inmovilizada en nanotubos de carbono de pared múltiple como bio-adsorbente para iones metálicos como Co(II), Cd(II), Cr(III), Mn(II), Ni(II) y Pb(II). El producto obtenido se utilizó como adsorbente SPE para la preconcentración de especies metálicas en grandes volúmenes (> 500 mL). La adsorción se realizó a pH 9.0 mediante el uso de una disolución reguladora de amoníaco/amonio y la elución se produjo con 8-10 mL de HNO₃ 1M. El material adsorbente se regenera fácilmente haciendo pasar entre 10-15 mL de disolución reguladora, y puede ser reutilizado sin disminución de la capacidad de adsorción hasta 50 veces. No hay información sobre el efecto de interferencias de otros metales de transición comúnmente presentes en las aguas.

Aydemir y col. [306] utilizaron bacterias *Escherichia coli* (vivas y muertas), inmovilizadas en nanotubos de carbono, como adsorbente, para la determinación por FAAS de algunos elementos traza. El material a base de bacterias vivas se preparó tal y como se indica: después de su cultivo, las células vivas se separaron del medio mediante centrifugación; las bacterias *E. coli* se mezclaron con MWCNTs en agua desionizada y se sometieron a agitación durante 2 h; la mezcla de *E. coli*-MWCNTs se separó de la fase líquida por centrifugación, se secó y se estabilizó.

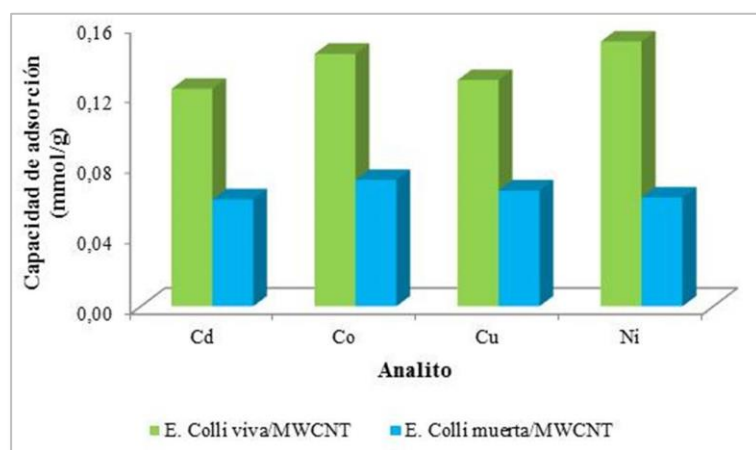


Figura 43. Capacidad de adsorción en mmol/g de diferentes analitos en *E. coli* viva y muerta inmovilizada en CNTs. Adaptada de referencia [306].

Este material adsorbente se ha utilizado para retener iones de Cd, Co, Cu, y Ni a pH 7-8, la elución se realizó con una disolución diluida de HNO_3 y los analitos se determinaron a niveles de $\mu\text{g L}^{-1}$ mediante FAAS. Las células vivas mostraron capacidades de adsorción más altas que las células muertas como se puede observar en la Figura 43. Sin embargo, hay que señalar una desventaja importante en el empleo de este tipo de material y es que está claro que el material de adsorción de células vivas no se puede utilizar más que en una ocasión ya que el primer proceso de elución con disolución ácida provocará la muerte de las células.

Tabla 11. Aplicaciones de CNTs funcionalizados por métodos físicos usados como adsorbentes SPE para la determinación de especies metálicas en diferentes muestras.

Ion metálico	Muestra	Tipo de CNTs	Técnica medida	Características analíticas				Reúso	Columna SPE/ notas	Ref.
				LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PF	RSD (%)	Recuperación (%)			
As(V)	Agua (consumo y río)	MWCNTs modificados	HG-AFS	2.0×10^{-3}		5.3	94.0-104.3		CTAC/ Cartucho de PP de 6 mL relleno con 200 mg de MWCNTs	[303]
Co(II)	Tomate, hígado bovino, harina, conservas de pescado, té, líquenes y agua natural	MWCNTs modificados	FAAS	0.74			97-101		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Mini-columna de 100x10 mm relleno con 250 mg de bioadsorbente	[305]
Cd(II)				0.24			97-102			
Pb(II)				2.60		1.0-	95-101			
Mn(II)				0.43		9.0	96-99	50		
Cr(III)				1.18			98-102			
Ni(II)				1.30			95-98			
							CRM ^a			
Cd(II)	Agua	MWCNTs modificados	FAAS	3.1			96-98		<i>Escherichia coli</i> Jeringa con filtro con 100 mg de bioadsorbente vivo o muerto	[306]
Co(II)				6.2	20	<12				
Cu(II)				3.0						
Ni(II)				3.0			CRM			

^aCRM: Exactitud determinada con Material de Referencia Certificado

2.10. REFERENCIAS

- [1] H.W. Kroto, J. R. Heath, S.C. O'Brien, R.F. Curl, R.E. Smalley. C60: Buckminsterfullerene. *Nature* 318 (1985) 162-163.
- [2] S. Iijima. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354 (1991) 56–58.
- [3] I.Y. Jeon, D.W. Chang, N.A. Kumar, J.B. Baek. Functionalization of Carbon Nanotubes. *Carbon Nanotubes. Polymer Nanocomposites*. InTech (2011).
<http://www.intechopen.com/books/carbon-nanotubes-polymer-nanocomposites/functionalization-of-carbon-nanotubes>
- [4] H.S. Nalwa. *Nanostructured Materials and Nanotechnology*. Academic Press, Concise Edition, London. UK, California, USA (2002).
- [5] A. Eatemadi, H. Daraee, H. Karimkhanloo, M. Kouhi, N. Zarghami, A. Akbarzadeh, M. Abasi, Y. Hanifehpour, S. W. Joo. Carbon nanotubes: properties, synthesis, purification, and medical applications. *Nanoscale Research Letters* 9 (2014) 393.
- [6] S. Iijima, T. Ichihashi. Single-Shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature* 363 (1993) 603-605.
- [7] N. Saifuddin, A.Z. Raziah, A.R. Junizah. Carbon nanotubes: A review on structure and their interaction with proteins. *Journal of Chemistry* (2013) 1-18.
- [8] B. Bhushan. *Handbook of Nanotechnology*. Springer, Heidelberg, Germany (2004).
- [9] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P. C. Eklund. *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes*. Academic Press, Nueva York, USA (1996).
- [10] M. Terrones, F. Banhar, N. Grobert, J.C. Charlier, H. Terrones, P.M. Ajayan. Molecular junctions by joining single-walled carbon nanotubes. *Physical Review Letters*. 89 (2002) 075505.1-075505.4.
- [11] W.K Maser, E. Muñoz, A.M. Benito, M.T. Martínez, G.F. de la Fuente, Y. Maniette, E. Anglaret, J.L. Sauvajol. Production of high-density single-walled nanotube material by a simple laser-ablation method. *Chemical Physics Letters* 292 (1998) 587-593.
- [12] A. Huzco. Synthesis of aligned carbon nanotubes. *Applied Physics A: Materials Science and Processing* 74 (2002) 617–638.
- [13] H.B Ray, A.Z. Anvar, A.H Walt. Carbon Nanotubes - The Route Toward Applications. *Science* 297 (2002) 787-792.
- [14] J.J. Davis, K.S. Coleman, B.R. Azamian, C.B. Bagshaw, M.L.H. Green. Chemical and biochemical sensing with modified single walled carbon nanotubes. *Chemistry-A European Journal* 9 (2003) 3732-3739.
- [15] P.C. Ma, N.A. Siddiqui, G. Marom, J.K. Kim. Dispersion and functionalization of carbon nanotubes for polymer-based nanocomposites: A review. *Composites: Part A* 41 (2010) 1345–1367.
- [16] J. Hone, M. Whitney, A. Zettl. Thermal conductivity of single-walled carbon nanotubes. *Synthetic Metals* 103 (1999) 2498–2499.
- [17] S. Berber, Y.K. Kwon, D. Tománek. Unusually high thermal conductivity of carbon nanotubes. *Physical Review Letters* 84 (2000) 4613-4616.
- [18] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, Ph. Avourios (Ed.). *Carbon nanotubes. Synthesis, Structure, Properties and Applications*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg (2001) 1-9.

- [19] T. Lin, V. Bajpai, L. Dai. Chemistry of carbon nanotubes. *Australian Journal of Chemistry* 56 (2003) 635-651.
- [20] L. Dai, P. He, S. Li. Functionalized surfaces based on polymers and carbon nanotubes for some biomedical and optoelectronic applications. *Nanotechnology* 14 (2003) 1081-1097.
- [21] M. Trojanowicz. Analytical applications of carbon nanotubes: a review. *Trends in Analytical Chemistry* 25 (2006) 480-489.
- [22] S. Niyogi, M.A. Hamon, H. Hu, B. Zhao, P. Bhowmik, R. Sen, M.E. Itkis, R.C. Haddon. Chemistry of single-walled carbon nanotubes. *Accounts of Chemical Research* 35 (2002) 1105-1113.
- [23] N. Grobert. Carbon nanotubes-becoming clean. *Materials Today* 10 (2007) 28-35.
- [24] M.M.A. Rafique, J. Iqbal. Production of carbon nanotubes by different routes-a review. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences* 1 (2011) 29-34.
- [25] A. Szabó, C. Perri, A. Csató, G. Giordano, D. Vuono, J.B. Nagy. Synthesis methods of carbon nanotubes and related materials. *Materials* 3 (2010) 3092-3140.
- [26] T.W. Ebbesen. Carbon nanotubes. *Annual Review of Materials Research* 24 (1994) 235-264.
- [27] R.L. Vanderwal, G.M. Berger, T.M. Ticich. Carbon nanotube synthesis in a flame using laser ablation for in situ catalyst generation. *Applied Physics* 77 (2003) 885-889.
- [28] D.R. Askeland, P.P. Phul. *The Science and Engineering of Materials*. C.L. Engineering, Stamford, USA (2003).
- [29] Y. Ando, X. Zhao. Synthesis of carbon nanotubes by arc-discharge method. *New Diamond and Frontier Carbon Technology* 16 (2006) 123-137.
- [30] Z. Shi, Y. Lian, X. Zhou, Z. Gu, Y. Zhang, S. Iijima, L. Zhou, K. T. Yue, S. Zhang. Mass-production of single-wall carbon nanotubes by arc discharge method. *Carbon* 37 (1999) 1449-1453.
- [31] T. Guo, P. Nikolaev, A.G. Rinzler, D. Tomanek, D.T. Colbert, R.E. Smalley. Self- assembly of tubular fullerenes. *Journal of Physical Chemistry* 99 (1995) 10694-10697.
- [32] A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H.J. Dai, P. Petit, J. Robert, C. Xu, Y. Lee, S.G. Kim, A.G. Rinzler, D.T. Colbert, G.E. Scuseria, D. Tománek, J.E. Fischer, R.E. Smalley. Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes. *Science* 273 (1996) 483-487.
- [33] E. Abbasi E, A. Sedigheh Fekri, A. Abolfazl , M. Morteza , N.H. Tayefi, H. Younes, N.K. Kazem, P.A. Roghiyeh. Dendrimers: synthesis, applications, and properties. *Nanoscale Research Letters* 9 (2014) 247-255.
- [34] T. Guo, P. Nikolaev, A. Thess, D. Colbert, R. Smalley. Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization. *Chemical Physics Letters*, 243 (1995) 49-54.
- [35] H.M. Cheng, F. Li, G. Su, H.Y. Pan, L.L. He, X. Sun, M.S. Dresselhaus. Large-scale and low-cost synthesis of single-walled carbon nanotubes by the catalytic pyrolysis of hydrocarbons. *Applied Physics Letters* 72 (1998) 3282-3284.
- [36] V. Patel. Global carbon nanotubes market outlook: industry beckons. *Nanotech Insights* 2 (2011) 31-35.
- [37] M. Kumar, Y. Ando. Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: A review on growth mechanism and mass production. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 10 (2010) 3739-3758.
- [38] P.X. Hou, C. Liu, H.M. Cheng. Purification of carbon nanotubes. *Carbon* 46 (2008) 2003-2025.

- [39] T. W. Ebbesen, P.M. Ajayan. Large scale synthesis of carbon nanotubes. *Nature* 358 (1992) 220-222.
- [40] M. Endo, R. Saito, M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus. In carbon nanotubes: preparation and properties. Edited by T. Ebbesen, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, Chapter II (35-110) 1997.
- [41] D. Djordjevic, D. Djutebek, J. Cveticanin, S. Velicknovic, M. Veljkovic, M. Bokorov, B. Babic-Stojic, O. Neskovic. Methods of purification and characterization of carbon nanotubes. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials* 8 (2006) 1631-1634.
- [42] J.F. Colomer, P. Piedigrosso, I. Willems, C. Journet, P. Bernier, G Van Tendeloo, A. Fonseca, J.B. Nagy. Purification of catalytically produced multiwalled nanotubes. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 94 (1998) 3753-3758.
- [43] S.S. Wong, S. Banerjee. *Functionalization of Nanotube Surfaces*, New York, USA, (2004) 1251-1268.
- [44] T.J. Park, S. Banerjee, T. Hemraj-Benny, S.S. Wong. Purification strategies and purity visualization techniques for single-walled carbon nanotubes. *Journal of Materials Chemistry* 16 (2006) 141-154.
- [45] H. Hu, A.P. Yu, E. Kim, B. Zhao, M.E. Itkis, E. Bekyarova, R.C. Haddon. Influence of the zeta potential on the dispersability and purification of single-walled carbon nanotubes. *Journal of Physical Chemistry B* 109 (2005) 11520-11524.
- [46] A.P. Yu, E. Bekyarova, M.E. Itkis, D. Fakhrutdinov, R. Webster, R.C. Haddon. Application of centrifugation to the large-scale purification of electric arc-produced single-walled carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society* 128 (2006) 9902-9908.
- [47] Y.L. Yang, L.M. Xie, Z. Chen, M.H. Liu, T. Zhu, Z.F. Liu. Purification and length separation of single-walled carbon nanotubes using chromatographic method. *Synthetic Metals* 155 (2005) 455-460.
- [48] X.Y. Huang, R.S. Mclean, M. Zheng. High-resolution length sorting and purification of DNA-wrapped carbon nanotubes by size-exclusion chromatography. *Analytical Chemistry* 77 (2005) 6225-6228.
- [49] J. Chen, M.A. Hamon, H. Hu, Y. Chen, A.M. Rao, P.C. Eklund, R.C. Haddon. Solution properties of single-walled carbon nanotubes. *Science* 282 (1998) 95-98.
- [50] M.A. Hamon, J. Chen, H. Hu, Y. Chen, A.M. Rao, P.C. Eklund, R.C. Haddon. Dissolution of Single-Walled Carbon Nanotubes, *Advanced Materials* 11 (1999) 834-840.
- [51] F. Pompeo, D.E. Resasco. Water solubilization of single-walled carbon nanotubes by functionalization with glucosamine, *Nano Letters* 2 (2002) 369-373.
- [52] J.E. Riggs, Z. Guo, D.L. Carroll, Y.P. Sun. Strong luminescence of solubilized carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society* 122 (2000) 5879-5880.
- [53] J. Chun, J.A. Fagan, E.K. Hobbie, B.J. Bauer. Size separation of single-wall carbon nanotubes by flow-field flow fractionation. *Analytical Chemistry* 80 (2008) 2514-23.
- [54] H.C. Shim, H.W. Lee, S. Yeom, Y.K. Kwak, S.S. Lee, S.H. Kim. Purification of carbon nanotubes through an electric field near the arranged microelectrodes. *Nanotechnology* 18 (2007) 115602.
- [55] Y.A. Kim, H. Muramatsu, T. Hayashi, M. End, M. Terrones, M.S. Dresselhaus. Thermal stability and structural changes of double-walled carbon nanotubes by heat treatment. *Chemical Physics Letters* 398 (2004) 87-92.

- [56] M. Yudasaka, H. Kataura, T. Ichihashi. Diameter enlargement of HiPCO single-wall carbon nanotubes by heat treatment. *Nano Letters* 1 (2001) 487–489.
- [57] M. Yudasaka, T. Ichihashi, D. Kasuya, H. Kataura, S. Iijima. Structure changes of single-wall carbon nanotubes and single-wall carbon nanohorns caused by heat treatment. *Carbon* 41 (2003) 1273–1280.
- [58] A. Koshio, M. Yudasaka, S. Iijima. Disappearance of inner tubes and generation of double-wall carbon nanotubes from highly dense multiwall carbon nanotubes by heat treatment. *Journal of Physical Chemistry C* 111 (2007) 10–12.
- [59] Y.A. Kim, T. Hayashi, k. Osawa, M.S. Dresselhaus, M. Endo. Annealing effect on disordered multi-wall carbon nanotubes. *Chemical Physics Letters* 380 (2003) 319–324.
- [60] N.M. Mubarak, E.C. Abdullah, N.S. Jayakumar, J.N. Sahu. An overview on methods for the production of carbon nanotubes. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 20 (2014) 1186-1197.
- [61] K.S. Kim, C.T. Kingston, D. Ruth, M. Barnes, B. Simar. Synthesis of high quality single-walled carbon nanotubes with purity enhancement and diameter control by liquid precursor Ar-H₂ plasma spraying. *Chemical Engineering Journal* 250 (2014) 331-341.
- [62] F. Ren, S.A. Kanaan, M.M. Majewska, G.D. Keskar, S. Azoz, H. Wang, X. Wang, G.L. Haller, Y. Chen, L.D. Pfefferle. Increase in the yield of (and selective synthesis of large-diameter) single-walled carbon nanotubes through water-assisted ethanol pyrolysis. *Journal of Catalysis* 309 (2014) 419-427.
- [63] S. Paul, S.K. Samdarshi. A green precursor for carbon nanotube synthesis. *New Carbon Materials* 26 (2011) 85-88.
- [64] A. Bazargan, G. McKay. A review - Synthesis of carbon nanotubes from plastic wastes. *Chemical Engineering Journal* 195-196 (2012) 377-391.
- [65] L. Meng, C. Fu, Q. Lu. Review: Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes. *Progress in Natural Science* 19 (2009) 801–810.
- [66] K.F. Kelly, I.W. Chiang, E.T. Mickelson, R.H. Hauge, J.L. Margrave, X. Wang, G.E. Scuseria, C. Radloff, N.J. Halas. Insight into the mechanism of sidewall functionalization of single-walled nanotubes: an STM study. *Chemical Physics Letters* 313 (1999) 445–450.
- [67] H. Touhara, J. Inahara, T. Mizuno, Y. Yokoyama, S. Okanao, K. Yanagiuch, I. Mukopadhyay, S. Kawasaki, F. Okino, H. Shirai, W.H. Xu, T. Kyotani, A. Tonita. Property Control of New Forms of Carbon Materials by Fluorination. *Journal of Fluorine Chemistry* 114 (2002) 181-188.
- [68] J.L. Stevens, A.Y. Huang, H. Peng, I. W. Chiang , V. N. Khabashesku , J.L. Margrave. Sidewall amino-functionalization of single-walled carbon nanotubes through fluorination and subsequent reactions with terminal diamines. *Nano Letters* 3 (2003) 331-336.
- [69] Q.H. Zhang, D.J. Chen. Percolation threshold and morphology of composites of conducting carbon black/polypropylene/EVA. *Journal of Materials Science* 39 (2004) 1751–1757.
- [70] K. Esumi, M. Ishigami, A. Nakajima, K. Swada, H. Honda. Chemical treatment of carbon nanotubes. *Carbon* 34 (1996) 279–281.
- [71] R. Yu, L. Chen, Q. Liu, J. Lin, K.L. Tan, S.C. Ng, H.S.O. Chan, G.Q. Xu, T.S.A. Hor. Platinum deposition on carbon nanotubes via chemical modification. *Chemistry of Materials* 10 (1998) 718–722.
- [72] M.L. Sham, J.K. Kim. Surface functionalities of multi-wall carbon nanotubes after UV/ozone and TETA treatments. *Carbon* 44 (2006) 768–777.

- [73] P.C. Ma, J.K. Kim, B.Z. Tang. Functionalization of carbon nanotubes using a silane coupling agent. *Carbon* 44 (2006) 3232–3238.
- [74] S.C. Wang, K.S. Chang, C.J. Yuan. Enhancement of electrochemical properties of screen-printed carbon electrodes by oxygen plasma treatment. *Electrochimica Acta* 54 (2009) 4937–43.
- [75] C.A. Ávila-Orta, V.J. Cruz-Delgado, M.G. Neira-Velázquez, E. Hernández-Hernández, M.G. Méndez-Padilla, F.J. Medellín-Rodríguez. Surface modification of carbon nanotubes with ethylene glycol plasma. *Carbon* 47 (2009) 1916–21.
- [76] R.J. Chen, Y. Zhang, Y. D. Wang, H. Dai. Noncovalent sidewall functionalization of single-walled carbon nanotubes for protein immobilization. *Journal of the American Chemical Society* 123 (2001) 3838–3839.
- [77] B. McCarthy, J.N. Coleman, R. Czerw, A.B. Dalton, D.L. Carroll, W.J. Blau. Microscopy studies of nanotube-conjugated polymer interactions. *Synthetic Metals* 121 (2001) 1225–1226.
- [78] D.E. Hill, Y. Lin, A.M. Rao, L.F. Allard, Y.P. Sun. Functionalization of carbon nanotubes with polystyrene. *Macromolecules* 35 (2002) 9466–71.
- [79] V. Georgakilas, D. Gournis, V. Tzitzios, L. Pasquato, D.M. Guldie, M. Pratod. Decorating carbon nanotubes with metal or semiconductor nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry* 17 (2007) 2679–2694.
- [80] M. Valcárcel. *Principios de Química Analítica*. Springer-Verlag Ibérica, Barcelona (1999) 418–419.
- [81] C. Herrero-Latorre, J. Álvarez-Méndez, J. Barciela-García, S. García-Martín, R.M. Peña-Creciente. Characterization of carbon nanotubes and analytical methods for their determination in environmental and biological samples: A review. *Analytica Chimica Acta* 853 (2015) 77–94.
- [82] S.L. Goertzen, K.D. Thériault, A.M. Oickle, A.C. Tarasuk, H.A. Andreas. Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. *Carbon* 48 (2010) 1252–1261.
- [83] A.M. Oicke, S.L. Goertzen, K.R. Hopper, Y.O. Abdalla, H.A. Andreas. Standardization of the Boehm titration: Part II. Method of agitation, effect of filtering and dilute titrant. *Carbon* 48 (2010) 3313–3322.
- [84] A.G. Rinzler, J. Liu, H. Dai, P. Nikolaev, C.B. Huffman, F.J. Rodríguez-Macías, P.J. Boul, A.H. Lu, D. Heymann, D.T. Colbert, R.S. Lee, J.E. Fischer, A.M. Rao, P.C. Eklund, R.E. Smalley. Large-scale purification of single-wall carbon nano-tubes: process, product, and characterization. *Applied Physics A: Materials Science and Processing* 67 (1998) 29–37.
- [85] I.W. Chiang, B.E. Brinson, A.Y. Huang, P.A. Willis, M.J. Bronikowski, J.L. Margrave, R.E. Smalley, R.H. Hauge. Purification and characterization of single-wall carbon nanotubes (SWNTS) obtained from the gas-phase decomposition of CO (HiPco Process). *Journal of Physical Chemistry B* 105 (2001) 8297–8301.
- [86] A. Jimeno, S. Goyanes, A. Eceiza, G. Kortaberria, I. Mondragón, M.A. Corcuera. Effects of amine molecular structure on carbon nanotubes functionalization. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 9 (2009) 6222–6227.
- [87] C. Gommès, S. Blacher, K. Masenelli-Varlot, C. Bossuot, E. McRae, A. Fonseca, J. B. Nagy, J.P. Pirard. Image analysis characterization of multi-walled carbon nanotubes. *Carbon* 41 (2003) 2561–2572.
- [88] C. Täschner, F. Pácal, A. Leonhardt, P. Spatenk, K. Bartsch, A. Graff, R. Kaltofen. Synthesis of aligned carbon nanotubes by DC plasma-enhanced hot filament CVD. *Surface and Coatings Technology* 174–175 (2003) 81–87.

- [89] C.H. Kiang, M. Endo, P.M. Ajayan, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus. Size effects in carbon nanotubes. *Physical Review Letters* 81 (1998) 1869–1872.
- [90] Y.P. Sun, K. Fu, Y. Lin, W. Huang. Functionalized carbon nanotubes: properties and applications. *Accounts of Chemical Research* 35 (2002) 1096–1104.
- [91] K.A. Wepasnick, B.A. Smith, J.L. Bitter, D.H. Fairbrother. Chemical and structural characterization of carbon nanotube surfaces. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (2010) 1003–1014.
- [92] V. Datsyuk, M. Kalyva, K. Papagelis, J. Parthenios, D. Tasis, A. Siokou, I. Kallitsis, C. Galiotis. Chemical oxidation of multiwalled carbon nanotubes. *Carbon* 46 (2008) 833–840.
- [93] S. Belluci, G. Gaggiotti, M. Marchetti, R. Mucciato, M. Regi. Atomic force microscopy characterization of carbon nanotubes. *Journal of Physics: Conference Series* 61 (2007) 99–104.
- [94] A. Volodin, M. Ahlskog, E. Seynaeve, C. Van Haesendonck, A. Fonseca, J.B. Nagy. Imaging the elastic properties of coiled carbon nanotubes with atomic force microscopy. *Physical Review Letters* 84 (2000) 3342–3345.
- [95] H.W.C. Postma, A. Sellmeijer, C. Dekker. Manipulation and imaging of individual single-walled carbon nanotubes with an atomic force microscope. *Advanced Materials* 12 (2000) 1299–1302.
- [96] M. Sheikholeslam, M. Pritzker, P. Chen., Hybrid peptide–carbon nanotube dispersions and hydrogels. *Carbon* 71 (2014) 284–293.
- [97] U. Hubler, P. Jess, H.P. Lang, H.J. Güntherodt, J.P. Salvetat, L. Forró. Scanning probe microscopy of carbon nanotubes. *Carbon* 36 (1998) 697–700.
- [98] S. Yasuda, K. Ikeda, L. Yu, K. Murakoshi. Characterization of isolated individual single-walled carbon nanotube by electrochemical scanning tunneling microscopy. *Japanese Journal of Applied Physics* 51 (2012) 1–4.
- [99] J. Li, Y. He, Y. Han, K. Liu, J. Wang, Q. Li, S. Fan, K. Jiang. Direct identification of metallic and semiconducting single-walled carbon nanotubes in scanning electron microscopy. *Nano Letters* 12 (2012) 4095–4101.
- [100] A. Hassanien, M. Tokumoto, Y. Kumazawa, H. Kataura, Y. Maniwa, S. Suzuki, Y. Achiba. Atomic structure and electronic properties of single-wall carbon nanotubes probed by scanning tunneling microscope at room temperature. *Applied Physics Letters* 73 (1998) 3839–3841.
- [101] S. Rols, E. Anglaret, J.L. Sauvajol, G. Coddens, A.J. Dianoux. Neutron scattering studies of the structure and dynamics of nanobundles of single-wall carbon nanotubes. *Applied Physics A* 69 (1999) 591–596.
- [102] A. Burian, J.C. Dore, H.E. Fisher, J. Sloan. Structural studies of multiwall carbon nanotubes by neutron diffraction. *Physical Review B* 59 (1999) 1665–1668.
- [103] H. Wang, W. Zhou, D.L. Ho, K.I. Winey, J.E. Fischer, C.J. Glinka, E.K. Hobbie. Dispersing single-walled carbon nanotubes with surfactants: a small angle neutron scattering study. *Nano Letters* 4 (2004) 1789–1793.
- [104] J. Koloczek, L. Hawelek, A. Burian, J.C. Dore, V. Honkimaki, T. Kyotani. Modelling studies of carbon nanotubes—comparison of simulations and X-ray diffraction data. *Journal of Alloys and Compounds* 401 (2005) 46–50.
- [105] M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, A. Jorio. Raman spectroscopy of carbon nanotubes. *Physics Reports* 409 (2005) 47–99.
- [106] S.K. Pillai, S.S. Ray, M. Moodley. Purification of multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 8 (2008) 1–21.

- [107] A.I. López Lorente, B.M. Simonet, M. Varcárcel. Raman spectroscopic characterization of single walled carbon nanotubes: influence of the sample aggregation state. *Analyst* 139 (2014) 290–298.
- [108] A. Jorio, R. Saito, J.H. Hafner, C.M. Lieber, M. Hunter, T. McClure, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus. Structural (n, m) determination of isolated single-wall carbon nanotubes by resonant Raman scattering. *Physical Review Letters* 86 (2001) 1118–1121.
- [109] A.M. Rao, E. Richter, S. Bandow, B. Chase, P.C. Eklund, K.A. Williams, S. Fang, K.R. Subbaswamy, M. Menon, A. Thess, R.E. Smalley, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus. Diameter-selective Raman scattering from vibrational modes in carbon nanotubes. *Science* 275 (1997) 187–191.
- [110] L. Stobinski, B. Lesiak, L. Kövér, J. Tóth, S. Biniak, G. Trykowski, J. Judek. Multiwall carbon nanotubes purification and oxidation by nitric acid studied by the FTIR and electron spectroscopy methods. *Journal of Alloys and Compounds* 501 (2010) 77–84.
- [111] S.S. Grazhulene, A.N. Red'kin, G.F. Telegin, A.V. Bazhenov, T.N. Fursova. Adsorption properties of carbon nanotubes depending on the temperature of their synthesis and subsequent treatment. *Journal of Analytical Chemistry* 65 (2010) 682–689.
- [112] Y. Tian, H. Jiang, J.V. Pfaler, Z. Zhu, A.G. Nasibulin, T. Nikitin, B. Aitchison, L. Khriachtchev, D.P. Brown, E.I. Kauppinen. Analysis of the size distribution of single-walled carbon nanotubes using optical absorption spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry Letters* 1 (2010) 1143–1148.
- [113] M.E. Itkis, D.E. Perea, R. Jung, S. Niyogi, R.C. Haddon. Comparison of analytical techniques for purity evaluation of single-walled carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society* 127 (2005) 3439–3448.
- [114] J.C. Goak, H.S. Lee, J.H. Han, J.Y. Park, Y. Seo, K.B. Kim, N. Lee. New metric for evaluating the purity of single-walled carbon nanotubes using ultraviolet–visible–near infrared absorption spectroscopy. *Carbon* 75 (2014) 68–80.
- [115] J. Meng, M. Yang, L. Song, H. Kong, C.Y. Wang, R. Wang, C. Wang, S.S. Xie, H.Y. Xu. Concentration control of carbon nanotubes in aqueous solution and its influence on the growth behavior of fibroblasts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 71 (2009) 148–153.
- [116] S. Attal, R. Thiruvengadathan, O. Regev. Determination of the concentration of single-walled carbon nanotubes in aqueous dispersion using UV-vis absorption spectroscopy. *Analytical Chemistry* 78 (2006) 8098–8104.
- [117] X. Liu, T. Pichler, M. Knupfer, M.S. Golden, J. Fink, H. Kataura, Y. Achiba. Detailed analysis of the mean diameter and diameter distribution of single-wall carbon nanotubes from their optical response. *Physical Review B* 66 (2002) 45411–45418.
- [118] M.E. Itkis, D.E. Perea, S. Niyogi, S.M. Rickard, M.A. Hamon, H. Hu, B. Zhao, R.C. Haddon. Purity evaluation of as-prepared single-walled carbon nanotube soot by use of solution-phase near-IR spectroscopy. *Nano Letters* 3 (2003) 309–314.
- [119] M.J. O'Connell, S.M. Bachilo, C.B. Huffman, V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, K.L. Rialon, P.J. Boul, W.H. Noon, C. Kittrell, J. Ma, R.H. Hauge, R.B. Weisman, Smalley. Band gap fluorescence from individual single-walled carbon nanotubes. *Science* 297 (2002) 593–596.
- [120] H. Huang, M. Zou, X. Xu, F. Liu, N. Li. Near-infrared fluorescence spectroscopy of single-walled carbon nanotubes and its applications. *Trends in Analytical Chemistry* 30 (2011) 1109–1119.
- [121] A.I. Chernov, E.D. Obraztsova. Photoluminescence of single-walled carbon nanotube films. *Physica Status Solidi B* 247 (2010) 2805–2809.

- [122] Y.M. Shulga, T.C. Tien, C.C. Huang, S.C. Lo, V.E. Muradyan, N.V. Polyakova, Y.C. Ling, R.O. Loutfy, A.P. Moravsky. XPS study of fluorinated carbon multi-walled nanotubes. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 160 (2007) 22–28.
- [123] S. Maldonado, S. Morin, K.J. Stevenson. Structure, composition, and chemical reactivity of carbon nanotubes by selective nitrogen doping. *Carbon* 44 (2006) 1429–1437.
- [124] P.D. Ngo. Energy dispersive spectroscopy. Failure analysis of integrated circuit: tools and techniques. Springer science, New York, USA (1999) 205–215.
- [125] A. Chu, J. Cook, R.J.R. Heesom, J.L. Hutchison, M.L.H. Green, J. Sloan. Filling of carbon nanotubes with silver gold, and gold chloride. *Chemistry of Materials* 8 (1996) 2751–2754.
- [126] D. Bera, S.C. Kuiry, M. McCutchen, A. Kruize, H. Heinrich, M. Meyyappan, S. Seal. In-situ synthesis of palladium nanoparticles-filled carbon nanotubes using arc-discharge in solution. *Chemical Physics Letters* 386 (2004) 364–368.
- [127] K.X. Yang, M.E. Kitto, J.P. Orsini, K. Swami, S.E. Beach. Evaluation of sample pretreatment methods for multiwalled and single-walled carbon nanotubes for the determination of metal impurities by ICP-MS, ICPO-ES, and instrument neutron activation analysis. *Chemical Physics Letters* 25 (2010) 1290–1297.
- [128] M. Resano, E. Bolea-Fernández, E. Mozas, M.R. Flórez, P. Grinberg, R.E. Sturgeon. Simultaneous determination of Co, Fe Ni and Pb in carbon nanotubes by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28 (2013) 657–665.
- [129] R. Zeisler, R. Oflaz, R.L. Paul, J.A. Fagan. Use of neutron activation analysis for the characterization of single-wall carbon nanotube materials. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 291 (2012) 561–567.
- [130] L.S.K. Pang, J.D. Saxby, S.P. Chatfield. Thermogravimetric analysis of carbon nanotubes and nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry* 97 (1993) 6941–6942.
- [131] C.M. Chen, M. Chen, F.C. Leu, S.Y. Hsu, S.C. Wang, S.C. Shi, C.F. Chen. Purification of multi-walled carbon nanotubes by microwave digestion method. *Diamond and Related Materials* 13 (2004) 1182–1186.
- [132] E. Mansfield, A. Kar, S.A. Hooker. Applications of TGA in quality control of SWCNTs. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396 (2010) 1071–1077.
- [133] J.H. Lehman, M. Terrones, E. Mansfield, K.E. Hurst, V. Meunier. Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. *Carbon* 49 (2011) 2581–2602.
- [134] B.Z. Tang, H. Xu. Preparation, alignment, and optical properties of soluble poly (phenylacetylene)-wrapped carbon nanotubes. *Macromolecules* 32 (1999) 2569–2576.
- [135] G.S. Duesberg, M. Burghard, J. Muster, G. Philipp, S. Roth. Separation of carbon nanotubes by size exclusion chromatography. *Chemical Communications* 3 (1998) 435–436.
- [136] G.S. Duesberg, J. Muster, V. Krstic, M. Burghard, S. Roth. Chromatographic size separation of single-wall carbon nanotubes. *Applied Physics A* 67 (1998) 117–119.
- [137] G.S. Duesberg, W. Blau, H.J. Byrne, J. Muster, M. Burghard, S. Roth. Chromatography on carbon nanotubes. *Synthetic Metals* 103 (1999) 2484–2485.
- [138] Y. Yang, L. Xie, Z. Chen, M. Liu, T. Zhu, Z. Liu. Purification and length separation of single-walled carbon nanotubes using chromatographic method. *Synthetic Metals* 155 (2005) 455–460.
- [139] J. Liu, A.G. Rinzler, H. Dai, J.H. Hafner, R.K. Bradley, P.J. Boul, A. Lu, T. Iverson, K. Shelimov, C.B. Huffman, F. Rodríguez-Macías, Y.S. Shon, T.R. Lee, D.T. Colbert, R.E. Smalley. Fullerene pipes. *Science* 280 (1998) 1253–1256.

- [140] B.S. Flavel, K.E. Moore, M. Pfohl, M.M. Kappes, F. Hennrich. Separation of single-walled carbon nanotubes with a gel permeation chromatography system. *Nano* 8 (2014) 1817–1826.
- [141] S.K. Doorn, R.E. Fields, H. Hu, M.A. Hamon, R.C. Haddon, J.P. Selegue, V. Majidi. High resolution capillary electrophoresis of carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society* 124 (2002) 3169–3174.
- [142] S.K. Doorn, M.S. Strano, M.J. O'Connell, E.H. Haroz, K.L. Rialon, R.H. Hauge, R.E. Smalley. Capillary electrophoresis separations of bundled and individual carbon nanotubes. *Journal of Physical Chemistry B* 107 (2003) 6063–6069.
- [143] B. Suárez, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel. Separation of carbon nanotubes in aqueous medium by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 1128 (2006) 282–289.
- [144] F.A. Messaud, R.D. Sanderson, J.R. Runyon, T. Otte, H. Pasch, S.K.R. Williams. An overview on field-flow fractionation techniques and their applications in the separation and characterization of polymers. *Progress in Polymer Science* 34 (2009) 351–368.
- [145] B. Chen, J.P. Selegue. Separation and characterization of single-walled and multiwalled carbon nanotubes by using flow field-flow fractionation. *Analytical Chemistry* 74 (2002) 4774–4780.
- [146] M.H. Moon, D. Kang, J. Jung, J. Kim. Separation of carbon nanotubes by frit inlet asymmetrical flow field-flow fractionation. *Journal of Separation Science* 27 (2004) 710–717.
- [147] N. Tagmatarchis, A. Zattoni, P. Reschiglian, M. Prato. Separation and purification of functionalized water-soluble multi-walled carbon nanotubes by flow field-flow fractionation. *Carbon* 43 (2005) 1984–1989.
- [148] A.A. Green, M.C. Hersam. Ultracentrifugation of single-walled nanotubes. *Materials Today* 10 (2007) 59–60.
- [149] M.S. Arnold, A.A. Green, J.F. Hulvat, S.I. Stupp, M.C. Hersam. Sorting carbon nanotubes by electronic structure using density differentiation. *Nature Nanotechnology* 1 (2006) 60–65.
- [150] A. Merkoçi. Carbon nanotubes in analytical sciences. *Microchimica Acta* 152 (2006) 157–174.
- [151] B. Pérez-López, A. Merkoçi. Carbon nanotubes and graphene in analytical sciences. *Microchimica Acta* 179 (2012) 1–16.
- [152] M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet. Role of carbon nanotubes in analytical science. *Analytical Chemistry* 79 (2007) 4788–4797.
- [153] M. Valcárcel, B. M. Simonet, S. Cárdenas, B. Suárez. Present and future applications of carbon nanotubes to analytical science. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382 (2005) 1783–1790.
- [154] K. Scida, P.W. Stege, G. Haby, G.A. Messina, C. D. García. Recent applications of carbon-based nanomaterials in analytical chemistry: critical review. *Analytica Chimica Acta* 691 (2011) 6–17.
- [155] A. Herrera-Herrera, S. Fanali, M. Asensio-Ramos, M.A. Rodríguez-Delgado, J. Hernández-Borges. Carbon Nanotubes: Applications in chromatography and sample preparation. *LCGC Europe* 26 (2013).
<http://www.chromatographyonline.com/>
- [156] T. Altalhi, M. Ginic-Markovic, N. Han, S. Clarke, D. Losic. Synthesis of carbon nanotube (CNT) composite membranes. *Membranes* 1 (2011) 37–47.
- [157] A. Srivastava, O.N. Srivastava, S. Talapatra, R. Vajtai, P.M. Ajayan. Carbon nanotube filters. *Nature Materials* 3 (2004) 610–614.

- [158] Z.V.P. Murthy, M.S. Gaikwad. Preparation of chitosan-multiwalled carbon nanotubes blended membranes: Characterization and performance in the separation of sodium and magnesium ions. *Nanoscale and Microscale thermophysical Engineering* 17 (2013) 245-263.
- [159] A.K. Wanekaya. Applications of nanoscale carbon-based materials in heavy metal sensing and detection. *Analyst* 136 (2011) 4383-4391.
- [160] G.A. Rivas, M.D. Rubianes, M.C. Rodríguez, N.F. Ferreyra, G.L. Luque, M.L. Pedano, S.A. Miscoria, C. Parrado. Carbon nanotubes for electrochemical biosensing. *Talanta* 74 (2007) 291-307.
- [161] L. Agüi, Yáñez-Sedeño, J.M. Pingarrón. Role of carbon nanotubes in electroanalytical Chemistry. A review. *Analytica Chimica Acta* 622 (2008) 11-47.
- [162] E.N. Primo, F.A. Gutierrez, G.L. Luque, P.R. Dalmasso, A. Gasnier, Y. Jalit, M. Moreno, M.V. Bracamonte, M. Eguílaz Rubio, M.L. Pedano, M.C. Rodríguez, N.F. Ferreyra, M.D. Rubianes, S. Bollo, G.A. Rivas. Comparative study of the electrochemical behavior and analytical applications of (bio) sensing platforms based on the use of multi-walled carbon nanotubes dispersed in different polymers. *Analytica Chimica Acta* 805 (2013) 19- 35.
- [163] W.D. Zhang, W.H. Zhang. Carbon nanotubes as active components for gas sensors. *Journal of Sensors* (2009) 1-16.
- [164] C.W. Tan, K.H. Tan, Y.T. Ong, A.R. Mohamed, S.H.S. Zein, S.H. Tan. Energy and environmental applications of carbon nanotubes. *Environmental Chemistry Letters* 10 (2012) 265-273.
- [165] Y.Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu, L. Chen. Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis. *Trends in Analytical Chemistry* 59 (2014) 26-41.
- [166] B. Socas-Rodríguez, A. V. Herrera-Herrera, M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges. Recent applications of carbon nanotube sorbents in analytical Chemistry. *Journal of Chromatography A*, 1357 (2014) 110-146.
- [167] C.M. Hussain, C. Saridara, S. Mitra. Altering the polarity of self-assembled carbon nanotubes stationary phase via covalent functionalization. *RSC Advances* 1 (2011) 685-689.
- [168] C.M. Hussain, S. Mitra. Micropreconcentration units based on carbon nanotubes (CNT). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399 (2011) 75-89.
- [169] A. Speltini, D. Merli, D. Dondi, G. Paganini, A. Profumo. Improving selectivity in gas chromatography by using chemically modified multi-walled carbon nanotubes as stationary phase. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (2012) 1157-1165.
- [170] A. Speltini, D. Merli, A. Profumo. Analytical application of carbon nanotubes, fullerenes and nanodiamonds in nanomaterials-based chromatographic stationary phases: A review. *Analytica Chimica Acta* 783 (2013) 1-16.
- [171] A.H. Duan, S.M. Xie, L.M. Yuan. Nanoparticles as stationary and pseudo-stationary phases in chromatographic and electrochromatographic separations. *Trends in Analytical Chemistry* 30 (2011) 484-491.
- [172] L.M. Yuan., C.X. Ren., L. Li, P. Ai., Z-H. Yan, M. Zi, Z.Y. Li. Single-walled carbon nanotubes used as stationary phase in GC. *Analytical Chemistry* 78 (2006) 6384- 6390.
- [173] D. Merli, A. Speltini, D. Dondi, D. Longhi, C. Milanese, A. Profumo. Intermolecular interactions of substituted benzenes on multi-walled carbon nanotubes grafted on HPLC silica microspheres and interaction study through artificial neural networks. *Arabian Journal of Chemistry*. En prensa, acceso online 26 Febrero 2015.

- [174] C. André, G. Lenancker, Y. C. Guillaume. Non-covalent functionalisation of monolithic silica for the development of carbon nanotube HPLC stationary phases. *Talanta* 99 (2012) 580–585.
- [175] M. Zhang, H. Qiu. Progress in stationary phases modified with carbonaceous nanomaterials for high-performance liquid chromatography. *Trends in Analytical Chemistry* 65 (2015) 107–121.
- [176] T. Yoo, H. Ozawa, T. Fujigaya, N. Nakashima. Evaluation of affinity of molecules for carbon nanotubes. *Nanoscale* 3 (2011) 2517–2522.
- [177] C. André, R. Aljhni, L. Lethier, Y. Guillaume. Development and evaluation of a new fluorinated double-wall carbon nanotube HPLC stationary phase. *Chromatographia* 77 (2014) 1257–1265.
- [178] T. Fujigaya, J. Yoo, N. Nakashima. A method for the coating of silica spheres with an ultrathin layer of pristine single-walled carbon nanotubes. *Carbon* 49 (2011) 468–476.
- [179] C. André, T. Gharbi, Y.C. Guillaume. A novel stationary phase based on amino derivatized nanotubes for HPLC separations: theoretical and practical aspects. *Journal of Separation Science* 32 (2009) 1757–1764.
- [180] S.H. Kwon, J.H. Park. Intermolecular interactions on multiwalled carbon nanotubes in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Separation Science* 29 (2006) 945–952.
- [181] M.P. Segato, C.R. Silva, I.C.S.F. Jardim, Capillary electrochromatography: contextualization, state-of-the-art and perspectives. *Química Nova* 32 (2009).
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000200030>
- [182] B. Suárez, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine by combining an immobilized carboxylated carbon nanotubes minicolumn for solid-phase extraction with capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1159 (2007) 203–207.
- [183] Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, B.M. Simonet, M. Valcárcel. Recent developments in capillary EKC based on carbon nanoparticles. *Electrophoresis* 30 (2009) 169–175.
- [184] M. Giannetto, V. Mastria, G. Mori, A. Arduini, A. Secchi. New selective gas sensor based on piezoelectric quartz crystal modified by electropolymerization of a molecular receptor functionalised with 2,2'-bithiophene. *Sensors and actuators B: Chemical*, 115, (2006) 62–68.
- [185] Y.K. Shogenov, T.A. Kuchmenko, S.S. Grazhulene, A.N. Red'kin. Quartz crystal microbalance determination of vapors of volatile organic compounds on carbon nanotubes under batch conditions. *Journal of Analytical Chemistry* 67 (2012) 21–27.
- [186] T.A. Kuchmenko, R.U. Umarhanov. Peculiarities of microweighing of trace quantities of alkylamines on polymer and solid-state thin films. *Journal of Analytical Chemistry* 68 (2013) 368–375.
- [187] T. A. Kuchmenko, R.U. Umarhanov, Z.Y. Kochetov, N.V. Bel'skikh. Development of a piezosensor-based transducer, gas analyzer, and ammonia detector. *Journal of Analytical Chemistry* 67 (2012) 930–937.
- [188] C. Shi, J. Meng, C. Deng. Facile synthesis of magnetic graphene and carbon nanotube composites as a novel matrix and adsorbent for enrichment and detection of small molecules by MALDI-TOF-MS. *Journal of Materials Chemistry* 22 (2012) 20778–20785.
- [189] M. Ceglowski, S. Jasiecki, G. Schroeder. Laser desorption/ionization mass spectrometric analysis of folic acid, vancomycin and Triton X-100 on variously functionalized carbon nanotubes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27 (2013) 2631–2638.
- [190] F. Augusto, E. Carasek, R.G.C. Silva, S.R. Rivellino, A.D. Batista, E. Martendal. New sorbents for extraction and microextraction techniques. *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 2533–2542.

- [191] C. Herrero Latorre, J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente. Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to atomic spectrometric determination of metal species: a review. *Analytica Chimica Acta* 749 (2012) 16–35.
- [192] A.V. Herrera-Herrera, M.A. González-Curbelo, J. Hernandez-Borges, M. A. Rodríguez-Delgado. Carbon nanotubes applications in separation science: A review. *Analytica Chimica Acta* 734 (2012) 1– 30.
- [193] R.Q. Long, R.T. Yang. Carbon nanotubes as superior sorbent for dioxin removal. *Journal of the American Chemical Society* 123 (2001) 2058-2059.
- [194] X. Liang, S. Liu, S.Wang, Y. Guo, S. Jiang. Carbon-based sorbents: Carbon nanotubes. *Journal of Chromatography A*, 1357 (2014) 53–67.
- [195] A. El-Sheikh, J.A. Swileh, Y.S. Al-Degs. Effect of dimensions of multi-walled carbon nanotubes on its enrichment efficiency of metal ions from environmental waters. *Analytica Chimica Acta* 604 (2007) 119-126.
- [196] R.A. Gil, S.N. Goyanes, G. Polla, P. Smichowski, R.A. Olsina, L.D. Martínez. Application of multi-walled carbon nanotubes as substrate for the on-line preconcentration, speciation and determination of vanadium by ETAAS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 22 (2007) 1290-1295.
- [197] H. Wu, X. Wang, C. Xu, J. Lu, J. Tian, J. Ma. Multi-walled carbon nanotube-packed micro-column for on-line sorption and determination of bismuth in environmental water samples by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Atomic Spectroscopy* 31 (2010) 14-20.
- [198] H. Wu, H. Wen, B. Han, B. Du, J. Lu, J. Tian. Simple micro-column with multi-walled carbon nanotubes for on-line preconcentration and determination of lead in natural water by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Microchimica Acta* 166 (2009) 41-46.
- [199] H. Wu, X. Wang, B. Liu, Y. Liu, S. Li, J. Lu, J. Tian, W. Zhao, Z. Yang. Simultaneous speciation of inorganic arsenic and antimony in water samples by hydride generation-double channel atomic fluorescence spectrometry with on-line solid-phase extraction using single-walled carbon nanotubes micro-column. *Spectrochimica Acta B* 66 (2011) 74-80.
- [200] Y. Cai, G. Jiang, J. Liu, Q. Zhou. Multiwalled carbon nanotubes as a solid phase extraction adsorbent for the determination of bisphenol A, 4-n-nonylphenol, and 4-tert-octylphenol. *Analytical Chemistry*, 75 (2003) 2517–2521.
- [201] H.Y. Niu, Y.Q. Cai, Y.L. Shi, F.S. Wei, J.M. Liu, G.B. Jiang. A new solid-phase extraction disk based on a sheet of single-walled carbon nanotubes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392 (2008) 927-935.
- [202] K. Pyrzynska. Carbon nanotubes as sorbents in the analysis of pesticides. *Chemosphere* 83 (2011) 1407–1413.
- [203] B.T. Zhang, X. Zheng, H.F. Li, J.M. Lin. Application of carbon-based nanomaterials in sample preparation: a review. *Analytica Chimica Acta* 784 (2013) 1– 17.
- [204] L.M. Ravelo-Pérez, A.V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, M.A. Rodríguez-Delgado. Carbon nanotubes: solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2618–2641.
- [205] C. L. Arthur, J. Pawliszyn. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fiber. *Analytical Chemistry* 62 (1990) 2145–2148.
- [206] Q. Li, X. Wang, D. Yuan. Preparation of solid-phase microextraction coated with single-walled carbon nanotubes by electrophoretic deposition and its application in extracting phenols from aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 1216 (2009) 1305-1311.

- [207] C. Basheer, A.A. Alnedhary, B.S.M. Rao, S. Valliyaveetil, H. K. Lee. Development and application of porous membrane-protected carbon nanotube micro-solid-phase extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* (2006) 78, 2853-2858.
- [208] L. Guo, H.K. Lee. Development of multiwalled carbon nanotubes based micro-solid-phase extraction for the determination of trace levels of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples. *Journal of Chromatography A* 1218, (2011) 9321–9327.
- [209] X.Y. Song, Y.P. Shi, J. Chen. Carbon nanotubes-reinforced hollow fibre solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of carbamate pesticides in apples. *Food Chemistry* 139 (2013) 246–252.
- [210] A. Sarafraz-Yazdia, A. Amirib, G. Rounaghia, H. Eshtiagh-Hosseini. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine by hollow-fiber liquid membrane-protected solid-phase microextraction based on sol–gel fiber coating. *Journal of Chromatography B* 908 (2012) 67–75.
- [211] M.A. Farajzadeh, A.A. Matin. Determination of BTEX in water samples with an SPME hollow fiber coated copper wire. *Chromatographia* 68 (2008) 443–446.
- [212] T.L. Chapman. Genetic heavy metal toxicity: Explaining SIDS, Autism, Tourette's, Alzheimer's and Other Epidemics. iUniverse, Lincoln, NE, USA, 2008.
- [213] B. Sarkar. Heavy metals in the environment. Marcel Dekker, New York, 2002.
- [214] M. Pesavento, G. Alberti, R. Biesuz. Analytical methods for determination of free metal ion concentration, labile species fraction and metal complexation capacity of environmental waters: A review. *Analytica Chimica Acta* 631 (2009) 129-141.
- [215] S. Dadfarnia, A.M. Haji Shabani. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals: A review. *Analytica Chimica Acta* 658 (2010) 107-119.
- [216] A.H. El-Sheikh, J.A. Sweileh. Recent Applications of carbon nanotubes in solid phase extraction and preconcentration: a review. *Jordan Journal of Chemistry* 6 (2011) 1-16.
- [217] K. Pyrzynska. Carbon nanostructures for separation, preconcentration and speciation of metal ions. *Trends in Analytical Chemistry* 29 (2010) 718-727.
- [218] A. R. Türker. Separation, preconcentration and speciation of metal ions by solid phase extraction. *Separation and Purification Reviews* 41(2012) 169-206.
- [219] S. Chen, C. Liu, M. Yang, D. Lu, L. Zhu, Z. Wang. Solid-phase extraction of Cu, Co and Pb on oxidized single-walled carbon nanotubes and their determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 170 (2009) 247–251.
- [220] X. Cheng, S. Chen, X. Wang, C. Liu. Single-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbent for the preconcentration and determination of precious metals by ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 31 (2010) 75-80.
- [221] S. Chen, L. Zhu, X. Chen, X. Wang, X. Zhou. Simultaneous determination of Mn(II) and Mn(VII) by Single-wall carbon nanotubes preconcentration hyphenated with ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 32 (2011) 12-16.
- [222] C. Lu, H. Chiu. Adsorption of zinc (II) from water with purified carbon nanotubes. *Chemical Engineering Science* 61 (2006) 1138-1145.
- [223] C. Lu, H. Chiu, C. Liu. Removal of zinc (II) from aqueous solution by purified carbon nanotubes: kinetics and equilibrium studies. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 45 (2006) 2850-2855.

- [224] A. Peigney, C. Laurent, E. Flahaut, R.R. Bacsa, A. Rousset. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* 39 (2001) 507-514
- [225] S. Costa, B. Scheibe, M. Rummeli, E. Borowiak-Palen. Raman spectroscopy study on concentrated acid treated carbon nanotubes. *Physica Status Solidi* 246 (2009) 2717-2720.
- [226] S. Sajjadi, H. Ghourchian, P. Rahami. Different behaviors of single and multi-wall carbon nanotubes for studying electrochemistry and electrocatalysis of choline oxidase. *Electrochimica Acta* 56 (2011) 9542-9548.
- [227] M.M. Musameh, M. Hickey, I.L. Kyratzis. Carbon nanotube-based extraction and electrochemical detection of heavy metals. *Research on Chemical Intermediates Journal* 37 (2011) 675-689.
- [228] R. Sitko, B. Zawisza, E. Malicka. Modification of carbon nanotubes for preconcentration, separation and determination of trace-metal ions. *Trends in Analytical Chemistry* 37 (2012) 22-31.
- [229] P. Liang, Y. Liu, L. Guo. Determination of trace rare earth elements by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry after preconcentration with multiwalled carbon nanotubes. *Spectrochimica Acta Part B* 60 (2005) 125-129.
- [230] P. Liang, Y. Liu, L. Guo, J. Zeng, H. Lu. Multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent for the preconcentration of trace metal ions and their determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19 (2004) 1489-1492.
- [231] Q. Ding, P. Liang, F. Song, A. Xiang. Separation and preconcentration of silver ion using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent. *Separation Science and Technology* 41 (2006) 2723-2732.
- [232] H.D. Liang, D.M. Han. Multi-walled carbon nanotubes as sorbent for flow injection on-line microcolumn preconcentration coupled with flame atomic absorption spectrometry for determination of cadmium and copper. *Analytical Letters* 39 (2006) 2285-2295.
- [233] X. Zhao, N. Song, Q. Jia, W. Zhou. Determination of Cu, Zn, Mn and Pb by microcolumn packed with multiwalled carbon nanotubes on-line coupled with flame absorption spectrometry. *Microchimica Acta* 166 (2009) 329-335.
- [234] H.O. Shang. Flow injection on-line solid phase extraction using multi-walled carbon nanotubes as sorbent for cold vapor atomic fluorescence spectrometric determination of trace mercury in water samples. *Atomic Spectroscopy* 28 (2007) 35-40.
- [235] S.G. Ozcan, N. Satioglu, M. Soylak. Column solid phase extraction of iron (III), copper (II), manganese (II) and lead (II) ions food and water samples on multi-walled carbon nanotubes. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 2401-2406.
- [236] M. Soylak, O. Ercan. Selective separation and preconcentration of copper (II) in environmental samples by the solid phase extraction on multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials* 168 (2009) 1527-1531.
- [237] J.P. Xiao, Q.X. Zhou, H.H. Bai. Application of multiwalled carbon nanotubes treated by potassium permanganate for determination of trace cadmium prior to flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Environmental Sciences* 19 (2007) 1266-1271.
- [238] A. Stafiej, K. Pyrzynska. Solid phase extraction of metal ions using carbon nanotubes. *Microchemical Journal*, 89 (2008) 29-33.

- [239] C.G. Yuan, Y. Zhang, S. Wang, A. Chang. Separation and preconcentration of palladium using modified multi-walled carbon nanotubes without chelating agent. *Microchimica Acta* 173 (2011) 361-367.
- [240] J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, R.M. Peña Crecente, S. García Martín, C. Herrero Latorre. A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine. *Talanta* 85 (2011) 2361-2367.
- [241] Q. Zhou, Y. Ding, J. Xiao. Simultaneous determination of cyanazine, chlorotoluron and chlorbenzuron in environmental water samples with SPE multiwalled carbon nanotubes and LC. *Chromatographia* 75 (2007) 25-30.
- [242] C.R.T. Tarley, A.F. Barbosa, M.G. Segatelli, E.C. Figueiredo, P.O. Luccas. Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L⁻¹ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 21 (2006) 1305-1313.
- [243] M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet, Y. Molier-Martínez, R. Lucena. Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes. *Trends in Analytical Chemistry* 27 (2008) 34-43.
- [244] X. Liu, Y. Ji, Y. Zhang, H. Zhang, M. Liu. Oxidized multiwalled carbon nanotubes as a novel solid-phase microextraction fiber for determination of phenols in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* 1165 (2007) 10-17.
- [245] X. Liu, Y. Ji, H. Zhang, M. Liu. Highly sensitive analysis of substituted aniline compounds in water samples by using oxidized multiwalled carbon nanotubes as an in-tube solid-phase microextraction medium. *Journal of Chromatography A* 1212 (2008) 10-15.
- [246] M. Soylak, Y.E. Unsal. Chromium and iron determinations in food and herbal plant samples by atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) disk. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (2010) 1511-1515.
- [247] M. Tuzen, K.O. Saygi, M. Soylak. Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 632-639.
- [248] A. Stafiej, K. Pyrzynska. Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes. *Separation and Purification Technology* 58 (2007) 49-52.
- [249] P. Liang, Q. Ding, F. Song. Application of multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent for preconcentration of trace copper in water samples. *Journal of Separation Science* 28 (2005) 2339-2343.
- [250] J.P. Xiao, Q. Zhou, H. Bai. Preconcentration of copper with multi-walled carbon nanotubes pretreated by potassium permanganate cartridge for solid phase extraction prior to flame atomic absorption spectrometry. *Chinese Chemical Letters* 18 (2007) 714-717.
- [251] D. Bingol, M. Kulcu. Optimization of the solid phase extraction method for determination of Cu(II) in natural waters by using response surface methodology. *Analyst* 136 (2011) 4036-4044.
- [252] Q. Zhou, H. Bai, J. Xiao. Preconcentration of nickel with multi-walled carbon nanotubes pretreated by potassium permanganate for use as solid phase extraction adsorbent and determination by flame atomic absorption spectrometry. *Atomic Spectroscopy* 28 (2007) 150-155.
- [253] A.F. Barbosa, M.G. Segatelli, A.C. Pereira, A.S. Santos, L.T. Kubota, P.O. Luccas, C.R.T. Tarley. Solid-phase extraction system for Pb (II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 71 (2007) 1512-1519.

- [254] H.H. Vilela-Costa, G.F. Lima, L.R. Nacano, C.R. Tarley. Preconcentration/cleanup studies of tin from environmental water samples by oxidized multiwall carbon nanotubes packed column and its determination by ETAAS. *Water, Air, and Soil Pollution* 217 (2011) 557-565.
- [255] S. Chen, M. Xiao, D. Lu, Z. Wang. The use of carbon nanofibers microcolumn preconcentration for inductively coupled plasma mass spectrometry determination of Mn, Co and Ni. *Spectrochimica Acta B* 62 (2007) 1216-1221.
- [256] A.H. El-Sheikh, Y.S. Al-Degs, R.M. Al-As'ad, J.A. Swelieh. Effect of oxidation and geometrical dimensions of carbon nanotubes on Hg(II) sorption and preconcentration from real waters. *Desalination* 270 (2011) 214-220.
- [257] M. Savio, B. Parodi, L.D. Martínez, P. Smichowski, R.A. Gil. On-line solid phase extraction of Ni and Pb using carbon nanotubes and modified carbon nanotubes coupled to ETAAS. *Talanta* 85 (2011) 245-251.
- [258] H.H. Cho, K. Wepasnick, B.A. Smith, F.K. Bangash, D.H. Fairbrother, W.P. Ball. Sorption of aqueous Zn[II] and Cd[II] by multiwall carbon nanotubes: the relative roles of oxygen-containing functional groups and graphenic carbon. *Langmuir* 26 (2009) 967-981.
- [259] A. El-Sheikh. Effect of oxidation of activated carbon on its enrichment efficiency of metal ions: comparison with oxidized and non-oxidized multi-walled carbon nanotubes. *Talanta* 75 (2008) 127-134.
- [260] P. Liang, E. Zhao, Q. Ding, D. Du. Multiwalled carbon nanotubes microcolumn preconcentration and determination of gold in geological and water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta B* 63 (2008) 714-717.
- [261] I. López-García, R.E. Rivas, M. Hernández-Córdoba. Use of carbon nanotubes and electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters. *Talanta* 86 (2011) 52-57.
- [262] M. Tuzen, M. Soylak. Multiwalled carbon nanotubes for speciation of chromium in environmental samples. *Journal of Hazardous Materials* 147 (2007) 219-225.
- [263] A. Duran, M. Tuzen, M. Soylak. Preconcentration of some trace elements via using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent. *Journal of Hazardous Materials* 169 (2009) 466-471.
- [264] A. Karatepe, M. Soylak, L. Elci. Solid-phase extraction of some heavy metal ions on a double-walled carbon nanotube disk and determination by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of AOAC International* 94 (2011) 1617-1624.
- [265] S. Ghaseminezhad, D. Afzali, M.A. Taher. Flame atomic absorption spectrometry for the determination of trace amount of rhodium after separation and preconcentration onto modified multiwalled carbon nanotubes as a new solid sorbent. *Talanta* 80 (2009) 168-172.
- [266] P. Biparva, M.R. Hadjmohammadi. Selective separation/preconcentration of silver ion in water by multiwalled carbon nanotubes microcolumn as a sorbent. *Clean: Soil, Air, Water* 39 (2011) 1081-1086.
- [267] H. Tavallali, V. Fakhraee. Preconcentration and determination of trace amounts of Cd²⁺ using multiwalled carbon nanotubes by solid phase extraction-flame atomic absorption spectrometry, *International Journal of ChemTech Research* 3 (2011) 1628-1634.
- [268] H. Tavallali, H. Asvad. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of Pb(II) after solid phase extraction using multiwalled carbon nanotube, *International Journal of ChemTech Research* 3 (2011) 1635-1640.

- [269] C.H. Hussain, C. Saridara, S. Mitra. Modifying the sorption properties of multi-walled carbon nanotubes via covalent functionalization. *Analyst* 134 (2009) 1928-1933.
- [270] D. Afzali, A. Mostafavi. Potential of modified multiwalled carbon nanotubes with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol as a new solid sorbent for the preconcentration of trace amounts of cobalt(II) ion. *Analytical Sciences* 24 (2008) 1135-1139.
- [271] D. Afzali, A. Mostafavi, F. Etemadi, A. Ghazizadeh. Application of modified multiwalled carbon nanotubes as solid sorbent for separation and preconcentration of trace amounts of manganese ions. *Arabian Journal of Chemistry* 5 (2010) 187-191.
- [272] S. Tajik, M.A. Taher., A new sorbent of modified MWCNTs for column preconcentration of ultra trace amounts of zinc in biological and water samples. *Desalination* 278 (2011) 57-64.
- [273] S.Z. Mohammadi, D. Afzali, D. Pourtalebi. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of lead, cadmium and nickel in different matrixes after solid phase extraction on modified multiwalled carbon nanotubes. *Central European Journal of Chemistry* 8 (2010) 662-668.
- [274] T. Shamspur. Solid phase extraction of trace amounts of palladium ions using Multiwalled carbon nanotube modified by N,N'-bis(2-hydroxybenzylidene)-2,2'-(aminophenylthio) ethane prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 26 (2012) 19-26.
- [275] T. Shamspur, A. Mostafavi. Application of modified multiwalled carbon nanotubes as a sorbent for simultaneous separation and preconcentration trace amounts of Au(III) and Mn(II). *Journal of Hazardous Materials* 168 (2009) 1548-1553.
- [276] R. Li, X. Chang, Z. Li, Z. Zang, Z. Hu, D. Li, Z. Tu. Multiwalled carbon nanotubes modified with 2-aminobenzothiazole modified for uniquely selective solid-phase extraction and determination of Pb(II) ion in water samples. *Microchimica Acta* 172 (2011) 269-276.
- [277] Z. Zang, Z. Hu, Z. Li, Q. He, X. Chang. Synthesis, characterization and application of ethylenediamine-modified multiwalled carbon nanotubes for selective solid-phase extraction and preconcentration of metal ions. *Journal of Hazardous Materials* 172 (2009) 958-963.
- [278] Y. Cui, S. Liu, Z.J. Hu, X.H. Liu, H.W. Gao. Solid-phase extraction of lead (II) ions using multiwalled carbon nanotubes grafted with tris(2-aminoethyl)amine. *Microchimica Acta* 174 (2011) 107-113.
- [279] H. Tavallali, D. Abdardideh, M. Aalaei, S. Zahmatkesh. New application of chemically modified multiwalled carbon nanotubes with thiosemicarbazide as a sorbent for separation and preconcentration of trace amounts of Co(II), Cu(II), and Zn(II) in environmental and biological samples prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of the Chinese Chemical Society* 58 (2011) 1-7.
- [280] J. Wang, X. Ma, G. Fang, M. Pan, X. Ye, S. Wang. Preparation of iminodiacetic acid functionalized multi-walled carbon nanotubes and its application as sorbent for separation and preconcentration of heavy metal ions. *Journal of Hazardous Materials* 186 (2011) 1985-1992.
- [281] D. Afzali, R. Jamshidi, S. Ghaseminezhad, Z. Afzali. Preconcentration procedure trace amounts of palladium using modified multiwalled carbon nanotubes sorbent prior to flame atomic absorption spectrometry: 1st Nano Update. *Arabian Journal of Chemistry* 5 (2012) 461-466.
- [282] S. Vellaichamy, K. Palanivelu. Preconcentration and separation of copper, nickel and zinc in aqueous samples by flame absorption spectrometry after column solid-phase extraction onto MWCNTs impregnated with D2EHPA-TOPO mixture. *Journal of Hazardous Materials* 185 (2011) 1131-1139.

- [283] Y. Hu, C. Guo. Carbon nanotubes and carbon nanotubes/metal oxide heterostructures: Synthesis, characterization and electrochemical property. Carbon nanotubes. Growth and applications, InTech (2011).
<http://www.intechopen.com/books/Carbon-nanotubes-Growth-and-applications>
- [284] X. Huang, C. Pan, X. Huang. Preparation and characterization of γ - MnO_2 /CNTs nanocomposite. Materials Letters 61 (2007) 934-936.
- [285] S.G. Wang, W.X. Gong, X.W. Liu, Y.W. Yao, B.Y. Gao, Q.Y. Yue. Removal of lead(II) from aqueous solution by adsorption onto manganese oxide-coated carbon nanotubes. Separation and Purification Technology 58 (2007) 17-23.
- [286] B. Yang, Q. Gong, L. Zhao, H. Sun, N. Ren, J. Qin, J. Xu, H. Yang. Preconcentration and determination of lead and cadmium in water samples with a MnO_2 coated carbon nanotubes by using ETAAS. Desalination 278 (2011) 65-69.
- [287] R.S. Amais, J.S. Ribeiro, M.G. Segatelli, I.V.P. Yoshida, P.O. Luccas, C.R.T. Tarley. Assessment of nanocomposite alumina supported on multi-wall carbon nanotubes as sorbent for on-line nickel preconcentration in water samples. Separation and Purification Technology 58 (2007) 122-128.
- [288] P.H. Pacheco, P. Smichowski, G. Polla, L.D. Martínez. Solid phase extraction of Co ions using L-tyrosine immobilized on multiwall carbon nanotubes. Talanta 79 (2009) 249-253.
- [289] P.H. Pacheco, R.A. Gil, P. Smichowski, G. Polla, L.D. Martínez. L-tyrosine immobilized on multiwalled carbon nanotubes: A new substrate for thallium separation and speciation using stabilized temperature platform furnace-electrothermal atomic absorption spectrometry. Analytica Chimica Acta 656 (2009) 36-41.
- [290] Y. Liu, Y. Li, X.P. Yan. Preparation, characterization, and application of L-cysteine functionalized multiwalled carbon nanotubes as a selective sorbent for separation and preconcentration of heavy metals. Advanced Functional Materials 18 (2008) 1536-1543.
- [291] B. Parodi, M. Savio, L.D. Martínez, R.A. Gil, P. Smichowski. Study of carbon nanotubes and functionalized-carbon nanotubes as substrates for flow injection solid phase extraction associated to inductively coupled plasma with ultrasonic nebulization: Application to Cd monitoring in solid environmental samples. Microchemical Journal 98 (2011) 225-230.
- [292] Y. Liu, Y. Li, Z.H. Wu, X.P. Yan. Fabrication and characterization of hexahistidine-tagged protein functionalized multi-walled carbon nanotubes for selective solid-phase extraction of Cu^{2+} and Ni^{2+} . Talanta 79 (2009) 1464-1471.
- [293] D. Shao, X. Ren, J. Hu, Y. Chen, X. Wang. Preconcentration of Pb^{2+} from aqueous solution using poly(acrylamide) and poly(N,N-dimethylacrylamide) grafted multiwalled carbon nanotubes. Colloids and Surfaces A 360 (2010) 74-84.
- [294] D. Shao, Z. Jiang, X. Wang, J. Li, Y. Meng. Plasma induced grafting carboxymethyl cellulose on multiwalled carbon nanotubes for the removal of UO_2^{2+} from aqueous solution. Journal of Physical Chemistry B 113 (2009) 860-864.
- [295] X. Ren, D. Shao, G. Zhao, G. Sheng, J. Hu, S. Yang, X. Wang. Plasma induced multiwalled carbon nanotube grafted with 2-vinylpyridine for preconcentration of Pb (II) from aqueous solutions. Plasma Processes and Polymers 8 (2011) 589-598.
- [296] M.R. Nabid, R. Sedghi, R. Hajimirza, H.A. Oskooie, M.M. Heravi. A nanocomposite made from conducting organic polymers and multi-walled carbon nanotubes for the adsorption and separation of gold(III) ions. Microchimica Acta 175 (2011) 315-322.
- [297] M.R. Nabid, R. Sedghi, A. Bagheri, M. Behbahani, M. Taghizadeh, H.A. Oskooie, M.M. Heravi. Preparation and application of poly(2-amino thiophenol)/MWCNTs nanocomposite for

- adsorption and separation of cadmium and lead ions via solid phase extraction. *Journal of Hazardous Materials* 202-203 (2012) 93-100.
- [298] V.A. Lemos, L.S.G. Teixeira, M.A. Bezerra, A.C.S. Costa, J.T. Castro, L.A.M. Cardoso, D.J. de Jesus, E.S. Santosi, P.X. Baliza, L.N. Santos. New materials for solid-phase extraction of trace elements. *Applied Spectroscopy Reviews* 43 (2008) 303-334.
- [299] Z. Zhang, H. Zhang, Y. Hu, X. Yang, S. Yao. Novel surface molecularly imprinted material modified multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbent for selective extraction gallium ion from fly ash. *Talanta* 82 (2010) 304-311.
- [300] C. Tang, T. Zhou, J. Yang, Q. Zhang, F. Chen, Q. Fu, L. Yang. Wet-grinding assisted ultrasonic dispersion of pristine multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) in chitosan solution. *Colloids and Surfaces B* 56 (2011) 189-197.
- [301] M.A. Salam, M.S.I. Makki, M.Y.A. Abdelaal. Preparation and characterization of multi-walled carbon nanotubes/chitosan nanocomposite and its application for the removal of heavy metals from aqueous solution. *Journal of Alloys and Compounds* 509 (2011) 2582-2587.
- [302] X. Tan, M. Fang, C. Chen, S. Yu, X. Wang. Counterion effects of nickel and sodium dodecylbenzene sulfonate adsorption to multiwalled carbon nanotubes in aqueous solution. *Carbon* 46 (2008) 1741-1750.
- [303] L. Li, Y. Huang, Y. Wang, W. Wang. Hemimicelle capped functionalized carbon nanotubes-based nanosized solid-phase extraction of arsenic from environmental water samples. *Analytica Chimica Acta* 631 (2009) 182-188.
- [304] P.H. Pacheco, R.A. Gil, S.E. Cerutti, P. Smichowski, L.D. Martínez. Biosorption: A new rise for elemental solid phase extraction methods. *Talanta* 85 (2011) 2290-2300.
- [305] M. Tuzen, K.O. Saygi, C. Usta, M. Soylak. *Pseudomonas aeruginosa* immobilized multiwalled carbon nanotubes as biosorbent for heavy metal ions. *Bioresource Technology* 99 (2008) 1563-1570.
- [306] N. Aydemir, N. Tokman, A.T. Akarsubasi, A. Baysal, S. Akman. Determination of some trace elements by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration and separation by *Escherichia coli* immobilized on multiwalled carbon nanotubes. *Microchimica Acta* 175 (2011) 185-191.

2.11. PUBLICACIONES

Los epígrafes de este capítulo:

2.7. Caracterización de los nanotubos de carbono.

2.9. CNTs como adsorbentes para la extracción en fase sólida de metales y determinación mediante técnicas espectrométricas.

están basados en los siguientes artículos, que se incluyen a continuación:

Characterization of carbon nanotubes and analytical methods for their determination in environmental and biological samples: A review. C. Herrero-Latorre, J. Álvarez-Méndez, J. Barciela-García, S. García-Martín, R.M. Peña-Creciente.

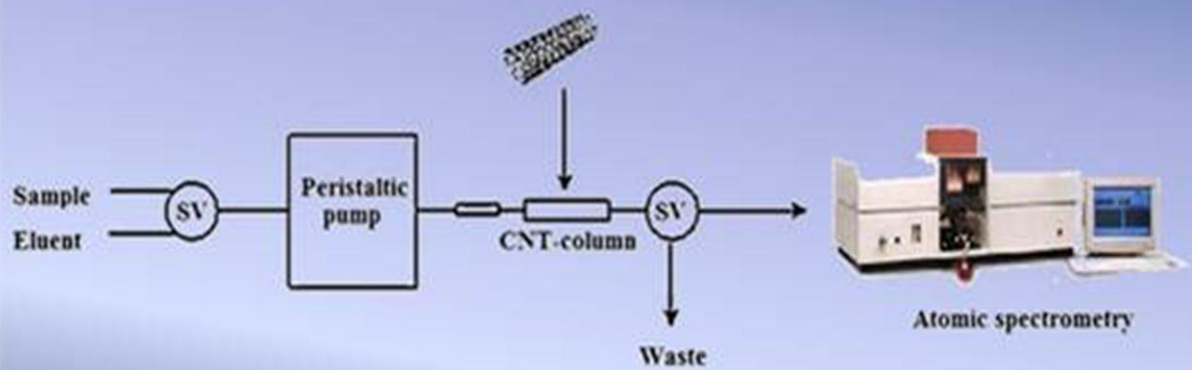
Publicado en la revista: **Analytica Chimica Acta 853 (2015) 77–94.**

<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2014.10.008>

Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to atomic spectrometric determination of metal species: a review. C. Herrero Latorre, J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Creciente.

Pubicado en la revista: **Analytica Chimica Acta 749 (2012) 16–35.**

<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.09.001>



3. PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

Los nanotubos de carbono se pueden usar como adsorbentes para una gran cantidad de aplicaciones en el ámbito de la Química Analítica, sin embargo, la naturaleza inerte e hidrofóbica de su superficie no es favorable para muchas de estas aplicaciones. En este trabajo se emplean CNTs en procesos de extracción para la determinación de metales mediante técnicas espectroscópicas pero, dado que la capacidad de adsorción de los iones metálicos por los nanotubos de carbono sin tratar es muy baja, será necesario incrementarla mediante su oxidación con diferentes agentes oxidantes. El trabajo realizado en este estudio se estructura de la siguiente manera:

- Funcionalización de los nanotubos de carbono de pared múltiple mediante la introducción de grupos oxigenados empleando diferentes tratamientos ácidos así como diferentes fuentes de energía, y evaluación de su aplicabilidad en la extracción en fase sólida.
- Desarrollo de dos procedimientos de extracción en fase sólida, uno para la extracción del cadmio y otro para la extracción del plomo presentes en muestras de orina humana, previos a su determinación por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). Como resultado de este trabajo han sido publicados los siguientes artículos:
 - *A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine, Talanta 85 (2011) 2361–2367.*
 - *Multiwalled carbon nanotubes as a sorbent material for the solid-phase extraction of lead from urine and subsequent determination by electrothermal atomic absorption spectrometry, Spectrochimica Acta Part B 101 (2014) 15–20.*
- Desarrollo de un procedimiento de extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) para la extracción, preconcentración y determinación conjunta de cadmio y plomo en muestras de orina humana. Como resultado de este trabajo ha sido publicado el siguiente artículo:
 - *Determination of cadmium and lead in urine samples after dispersive solid–liquid extraction on multiwalled carbon nanotubes by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry, Spectrochimica Acta Part B 106 (2015) 13–19.*



3.1. FUNCIONALIZACIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO Y SU EFECTO EN LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

3.1.1. Introducción

Dada su gran versatilidad como adsorbentes, se ha demostrado en diferentes estudios que los nanotubos de carbono (CNTs) pueden emplearse para separar de forma efectiva trazas de contaminantes en agua y aire, así como también para atrapar pequeñas moléculas como H₂, O₂, metano y diferentes especies metálicas. Este comportamiento está relacionado con su gran área superficial (entre 150 y 1500 m² g⁻¹), con la posibilidad de establecer interacciones π - π y con la excelente estabilidad química, térmica y mecánica, lo que los convierte en un material de gran interés para ser usado como adsorbente de compuestos polares y no polares mediante extracción en fase sólida (SPE) [1-3].

Los CNTs se han empleado con éxito en SPE para la extracción de analitos orgánicos e inorgánicos, pudiéndose emplear tanto nanotubos de carbono puros, como oxidados o funcionalizados. Los CNTs puros presentan la posibilidad de establecer fuertes interacciones de van der Waals y una alta energía superficial, lo que los hace insolubles en la mayoría de disolventes orgánicos y disoluciones acuosas al presentar una gran tendencia a la agregación espontánea. Consecuentemente, este hecho limita en gran medida su uso como adsorbente [4]. Sin embargo, la solubilidad y la capacidad de adsorción de estas estructuras hidrofóbicas puede ser altamente mejorada por introducción de grupos hidrofílicos en su estructura a través de su funcionalización. La presencia de grupos carboxílicos, carbonilos e hidroxilos en la superficie del nanotubo produce un notable incremento de su solubilidad y de su capacidad de intercambio iónico [5]. La estrategia más común para lograr unir dichos grupos funcionales en la superficie externa de los CNTs es mediante la funcionalización covalente exoédrica llevada a cabo mediante procesos de oxidación sobre nanotubos puros. En este caso, la unión ocurre preferentemente en las cubiertas de los extremos de los CNTs y en los sitios con defectos, y en menor medida en las paredes de los nanotubos. En la Figura 44 se observa un proceso de oxidación de nanotubos puros.

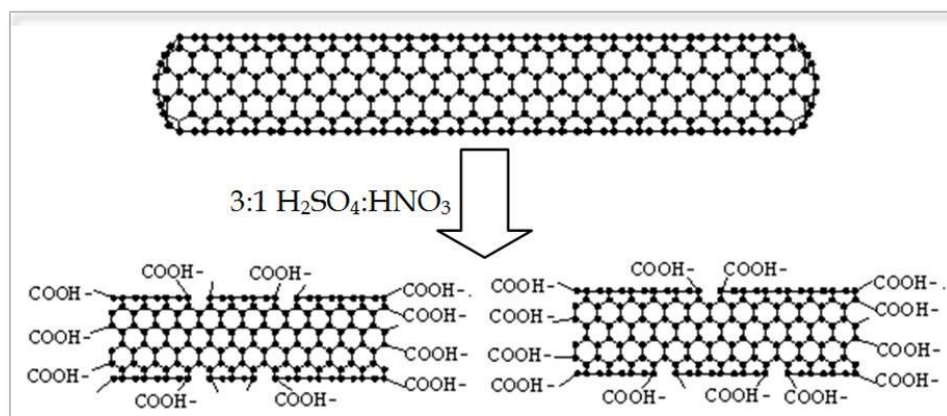


Figura 44. Proceso de oxidación de nanotubos puros [6].

Se han propuesto numerosos procedimientos de oxidación de los CNTs, tanto en fase gaseosa (oxidación con aire o plasma), como en fase líquida (empleando diferentes ácidos, oxidantes y/o mezclas de ambos), siendo ésta última la más habitual por su sencillez y efectividad [4]. El tratamiento térmico de los CNTs ha sido considerado como un sistema de obtención de nanotubos oxidados, sin embargo, este procedimiento se emplea normalmente como método de purificación previo, ya que es muy útil para eliminar residuos carbonosos y restos de metales catalíticos usados en su síntesis [4].

Entre las diferentes formas de oxidación de nanotubos en fase líquida se ha considerado el empleo de ácido nítrico en diferentes condiciones, así algunos autores han propuesto la inmersión de los nanotubos de carbono en dicho ácido a temperatura ambiente [7], y otros sometiéndolos a calentamiento por reflujo variando la temperatura y el tiempo de reacción [8]. Sin embargo, la forma más habitual de producir la oxidación de los CNTs es mediante su reflujo con una mezcla de ácidos sulfúrico y nítrico en relación 3:1 [4,9] (véase Figura 44), bajo diversas condiciones de temperatura y/o agitación [4,10]. Asimismo, se ha investigado el uso de energía de ultrasonidos para lograr una mejor oxidación; en este caso, mediante el fenómeno de cavitación se produce una separación inicial entre los nanotubos y se permite un acceso a la superficie del nanotubo más eficiente y la formación de grupos oxigenados de una forma más homogénea. No obstante, ha de tenerse en cuenta que un exceso de energía de ultrasonidos (tanto en tiempo como en potencia) puede causar roturas y acortamientos de los nanotubos, así como la formación de partículas amorfas de carbono [11]. Yang y col. [12], han llevado a cabo la funcionalización de CNTs en una mezcla de ácidos nítrico y sulfúrico, bajo energía de ultrasonidos durante 2 horas.

Otro procedimiento de funcionalización es el llevado cabo mediante oxidación asistida por microondas. Se ha demostrado que los nanotubos de carbono son excelentes absorbentes de la radiación de microondas [13], por ello, la intensificación de la acción de diversos oxidantes por acción de microondas ha producido excelentes resultados [14]. Wang y col. [15] han llevado a cabo la funcionalización química de CNTs a través de su oxidación con ácido nítrico y exposición de los nanotubos durante 15 minutos a este tipo de energía. Los resultados alcanzados fueron similares a los obtenidos por métodos convencionales, pero en períodos de tiempo considerablemente más cortos. Kuo y col. [16] usaron la misma fuente de energía, pero en este caso utilizaron como oxidantes H_2SO_4 , HNO_3 y/o KMnO_4 .

Como ya se ha indicado, se han descrito diferentes estrategias para llevar a cabo la funcionalización de los CNTs con grupos que contienen oxígeno, y se ha constatado que los resultados obtenidos (en cuanto a la cantidad y tipo de grupos funcionales) dependen en gran medida del tipo de tratamiento utilizado y de las condiciones empleadas. Sin embargo resulta muy dificultoso comparar los datos publicados entre sí debido a que, por una parte, existen muchos procedimientos diferentes así como muchas adaptaciones y variaciones de éstos; y por otro lado, la ausencia de un nanotubo de referencia, que ha imposibilitado aplicar las diversas estrategias sobre la misma muestra para su comparación.

Debido a estas consideraciones, en el presente capítulo se describen los estudios realizados en este trabajo para evaluar diferentes procesos de oxidación de nanotubos de carbono. Se han estudiado varios procesos de oxidación sobre el mismo tipo de nanotubo, valorando la eficiencia del tratamiento y las diferencias obtenidas en cuanto a su funcionalización. Para ello se han empleado diferentes técnicas de caracterización y adicionalmente se ha valorado la influencia del proceso de oxidación en la dispersión de los CNTs en un disolvente polar, y su efecto en el uso de los mismos como adsorbentes en columna en un sistema de SPE.

3.1.2. Procedimiento experimental

3.1.2.1. Reactivos y material

Los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) no tratados y preparados mediante deposición química en fase vapor (CVD) con acetileno como fuente de carbono en un flujo de hidrógeno (pureza 95 % m/m, 20-30 nm diámetro externo y longitud ~30 μm) fueron suministrados por Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd. (Chengdu, China). Las disoluciones de ácido nítrico del 65 % (m/v) y de ácido sulfúrico del 98 % (m/v) fueron adquiridas a Merck (Darmstadt, Alemania). El permanganato potásico, hidróxido sódico e hidrogenoftalato de potasio, así como las disoluciones de ácido clorhídrico (37 % m/m) y etanol del 96 % (v/v) fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España).

Se empleó una balanza analítica de precisión Precisa 80 A-200 M (Pacisa, Madrid, España) y se ha usado una centrífuga Centromix (JP-Selecta, Barcelona, España). Además, se ha utilizado un baño de ultrasonidos Ultrasons H-D (JP-Selecta, Barcelona, España), un horno microondas Milestone ETHOS 900 (Milestone Inc., Shelton, CT, USA) y un horno de mufla Heraeus electronic (Thermo Scientific Heraeus, Waltham, MA, USA).

A efectos de caracterización de los nanotubos de carbono resultantes de los diferentes sistemas de oxidación estudiados se ha usado la siguiente instrumentación, disponible en la Red de Infraestructuras de Apoyo a la Investigación y al Desarrollo Tecnológico (RIAIDT) de la USC: microscopio electrónico de transmisión (TEM) modelo JEM-1011 (JEOL, Peabody, MA; USA); espectrómetro IR-Raman modelo MB102 (ABB Bomen Inc., Quebec, Canada). Asimismo, se ha empleado instrumentación perteneciente al Centro de Apoyo Científico Tecnológico a la Investigación (C.A.C.T.I.) de la Universidad de Vigo para la realización de los análisis de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), en concreto se ha usado un espectrómetro ESCA/XPS, K-Alpha (Thermo Fisher Scientific, Somerset, NJ, USA).

3.1.2.2. Funcionalización

Se han estudiado y evaluado distintos procedimientos de oxidación de CNTs publicados por diversos autores [1,4,7-12,14-21]. Sobre la base de esta revisión bibliográfica, se han considerado nueve metodologías de funcionalización de nanotubos de carbono usando distintos reactivos, condiciones y fuentes de energía para su estudio comparativo a efectos de su empleo como adsorbente en SPE. A continuación se describen los diversos procedimientos, que han sido resumidos en la Tabla 12, incluyendo las correspondientes referencias bibliográficas.

- **Funcionalización ácida 1 (FAN-24):**

100 mg de CNTs se tratan con 25 mL de una disolución de HNO_3 al 65 % durante 24 h a temperatura ambiente.

- **Funcionalización ácida con reflujo de 1 hora (FAN-R1) y 4 horas (FAN-R4):**

100 mg de CNTs se tratan con 10 mL de disolución de HNO_3 al 65 %. Se somete la mezcla a reflujo a una temperatura de 115 °C, durante 1 y 4 horas, respectivamente.

- **Funcionalización ácida con reflujo y con mezcla de ácidos (FANS-R2):**

100 mg de CNTs se tratan con 30 mL de disolución de HNO_3 al 65 % y 10 mL de disolución de H_2SO_4 al 98 %. Se somete la mezcla a calentamiento con reflujo (90 °C) durante 2 horas con agitación magnética.

- **Funcionalización ácida usando energía de ultrasonidos con HNO_3 (FANS-US):**

100 mg de nanotubos se tratan con 50 mL de disolución de HNO_3 al 65 % y 50 mL de disolución de H_2SO_4 al 98 %. La mezcla se somete a energía de ultrasonidos (potencia: 400 W) durante 2 horas a temperatura ambiente.

- **Funcionalización ácida asistida con microondas con HNO_3 (FAN-MW):**

100 mg de nanotubos se tratan con 200 mL de disolución de HNO_3 al 65 % (repartidos en 10 bombas de microondas conteniendo 10 mg de nanotubos y 20 mL de HNO_3 cada una). La mezcla se somete a calentamiento con energía microondas (potencia: 650 W) durante 12 minutos.

- **Funcionalización ácida asistida con microondas con H_2SO_4 (FAS-MW):**

500 mg de nanotubos de carbono se tratan con 20 mL de disolución de ácido sulfúrico 1 M en una bomba de microondas. Se exponen a un programa de temperaturas consistente en una rampa de 5 minutos de duración a 400 W de potencia, que hace que la temperatura de

las muestras ascienda de 0 a 110 °C, y una segunda rampa de 10 minutos (y de idéntica potencia) que modifica la temperatura de 110 a 210 °C.

- **Funcionalización ácida asistida con microondas con H₂SO₄ y KMnO₄ (FASMn-MW):**
500 mg de CNTs se tratan con una mezcla formada por 10 mL de disolución de H₂SO₄ 1 M y 0.5 g de KMnO₄ en una bomba de microondas. Se exponen a un programa de temperaturas consistente en una rampa de 5 minutos de duración a 400 W de potencia, que hace que la temperatura de las muestras ascienda de 0 a 110 °C, y una segunda rampa de 10 minutos (y de idéntica potencia) que modifica la temperatura de 110 a 210 °C.
- **Funcionalización térmica (FT):**
100 mg de nanotubos se disponen en un crisol de porcelana y se llevan al horno de mufla a 400 °C durante una hora, removiendo cada 10 minutos para favorecer el contacto con el oxígeno atmosférico.

La preparación de los CNTs funcionalizados de acuerdo con los procedimientos antes descritos se llevó a cabo por triplicado. Una vez obtenidos los nanotubos oxidados, éstos fueron separados por centrifugación y lavados repetidas veces con abundante agua ultrapura hasta pH neutro. Se secaron en la estufa durante 24 h a 80 °C y se almacenaron para su caracterización.

Tabla 12. Procedimientos empleados para la funcionalización de los nanotubos de carbono.

Código	Reactivos	Fuente de energía	Variación	Ref.
FAN-24	HNO ₃ 65 %	----	----	[7]
FAN-R1	HNO ₃ 65 %	Térmica (reflujo)	1h	[9]
FAN-R4	HNO ₃ 65 %	Térmica (reflujo)	4h	[10]
FANS-R2	HNO ₃ 65 % H ₂ SO ₄ 98 %	Térmica (reflujo)	Mezcla de ácidos	[4]
FANS-US	HNO ₃ 65 % H ₂ SO ₄ 98 %	Ultrasonidos	----	[12]
FAN-MW	HNO ₃ 65 %	Microondas	----	[15]
FAS-MW	H ₂ SO ₄ 1 M	Microondas	H ₂ SO ₄	[16]
FASMn-MW	H ₂ SO ₄ 1 M KMnO ₄ 0.5 g	Microondas	H ₂ SO ₄ KMnO ₄	[16]
FT	-----	Térmica (Horno mufla)	----	[4]

3.1.2.3. Caracterización

Los nanotubos una vez funcionalizados se han caracterizado mediante las técnicas de microscopía electrónica de transmisión (TEM), espectroscopía infrarroja (IR), espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) y análisis volumétrico (valoración de Boehm). La preparación de las muestras para su análisis por cada una de las técnicas se describe en las subsecciones siguientes. Además, se ha evaluado la eficiencia de la funcionalización de los nanotubos de carbono mediante un análisis de dispersión y considerando su adecuación como material adsorbente para SPE en columna.

3.1.2.3.1. Microscopía electrónica de transmisión

Las muestras obtenidas en los procesos de funcionalización descritos, así como una muestra de nanotubos sin tratar, fueron dispersadas en agua desionizada en un baño de ultrasonidos. Estas dispersiones fueron pipeteadas y depositadas sobre una rejilla portaobjetos de metal de 3 mm de grosor recubierta con una película de polímero (Formvar) [22] y fueron analizadas usando un microscopio electrónico de transmisión.

3.1.2.3.2. Ensayos de sedimentación

El efecto de la presencia de grupos funcionales en los nanotubos de carbono fue estudiado por medio de la medida del tiempo de deposición en un disolvente polar (etanol). Para este experimento se mezclaron 5 mg de CNTs funcionalizados con etanol y se trataron con energía de ultrasonidos durante 10 minutos hasta su correcta dispersión. Transcurrido este tiempo, la disolución fue agitada manualmente y se dejó en reposo, midiéndose el tiempo de sedimentación [20,23]. Comparativamente, se realizó el mismo ensayo para nanotubos sin funcionalizar.

3.1.2.3.3. Análisis por espectroscopía de infrarrojo

Las muestras sólidas se homogenizaron con KBr y se depositaron en el molde para pastillas, sometiénolas una presión de 1000 Kg cm^{-2} durante 5 minutos [24]. Los espectros IR de las pastillas así obtenidas fueron registrados en la región de 4000 a 400 cm^{-1} usando un espectrómetro de IR-Raman.

3.1.2.3.4. Análisis por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

Las muestras obtenidas y secas fueron directamente empleadas para su análisis por XPS usando un instrumento Thermo Scientific K-Alpha ESCA, equipado con una fuente de rayos X Al Ka1.2 a 1486.6 eV.

3.1.2.3.5. Análisis por valoración ácido-base de Boehm

Los CNTs funcionalizados fueron analizados cuantitativamente mediante valoración potenciométrica para estimar el número de grupos oxigenados presentes en su superficie. Para ello se siguió el procedimiento originalmente propuesto por Boehm [25], con modificaciones [26,27]. Así, 2 mg de CNTs funcionalizados se mezclaron con 100 mL de disolución de NaOH 0.05 M (previamente valorada con biftalato potásico). La mezcla resultante se agitó durante 24 h para permitir que se alcanzase el equilibrio entre los CNTs y la disolución de hidróxido sódico. Una vez transcurrido este período de tiempo, la disolución se filtró a vacío y se tomaron partes alícuotas de 20 mL que se acidificaron por adición de 25 mL de disolución de HCl 0.05 M (previamente valorada) y se sometieron a desgasificación bajo corriente de N₂ durante 2 horas. Posteriormente fueron valoradas con NaOH 0.05 M. Las mezclas fueron analizadas por triplicado mediante valoración por retroceso, al determinarse el exceso de HCl, mediante un análisis potenciométrico.

3.1.2.3.6. Empleo de los CNTs en columnas de SPE

La posibilidad de emplear los nanotubos de carbono funcionalizados como material adsorbente en SPE, se ha evaluado, empleando una microcolumna de PTFE con una longitud de 40 mm y un diámetro

interno de 4 mm. Esta columna fue empaquetada con cantidades variables de los nanotubos de carbono y taponada con una pequeña porción de lana de vidrio en ambos extremos para evitar pérdidas del adsorbente durante las etapas de preconcentración/elución. La columna así preparada se insertó en un sistema FIA compuesto por una bomba peristáltica (Gilson Minipuls-3), y equipada con tubos calibrados de Tygon de 1.42 mm de diámetro interno

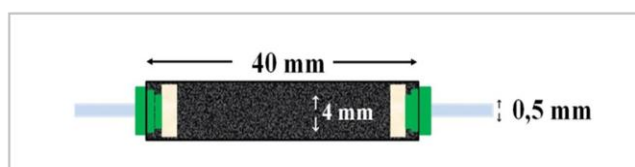


Figura 45. Esquema de las columnas usadas para evaluar su posible uso como material adsorbente en SPE.

(Ismatec), que permitieron la propulsión tanto de la muestra como de los reactivos empleados. Se estudió la correcta disposición del adsorbente en la columna así como los posibles problemas de obstrucción que podrían tener lugar.

3.1.3. Resultados

3.1.3.1. Estructura morfológica

En la Figura 46 se muestran las imágenes obtenidas por TEM de los nanotubos brutos y de algunas de las muestras funcionalizadas (FAN-24, FANS-R2, FANS-US, FAN-MW y FT).

En la primera imagen se observa que los CNTs no tratados se muestran totalmente enmarañados y con fibras muy largas. Al estudiar las restantes imágenes de microscopía de transmisión electrónica obtenidas para los nanotubos sometidos a distintos tratamientos, se comprueba que, en general, éstos han provocado una apertura de las terminaciones y la rotura de los nanotubos en fragmentos de menor longitud. La aglomeración inicial ha sido reducida en la mayoría de los casos, dando lugar a pequeños conjuntos de nanotubos agrupados en madejas, y en otros casos a pequeños fragmentos de tubos enredados, dependiendo de lo drástico que haya sido el procedimiento empleado. De los presentes resultados se concluye, así mismo, que en los tratamientos de funcionalización FAN-24 y FT (en los que se mantiene la muestra en ácido nítrico durante 24 h sin calentamiento, o es tratada térmicamente en la mufla a 400 °C respectivamente), la estructura inicial de los CNTs no se ve alterada de forma significativa.

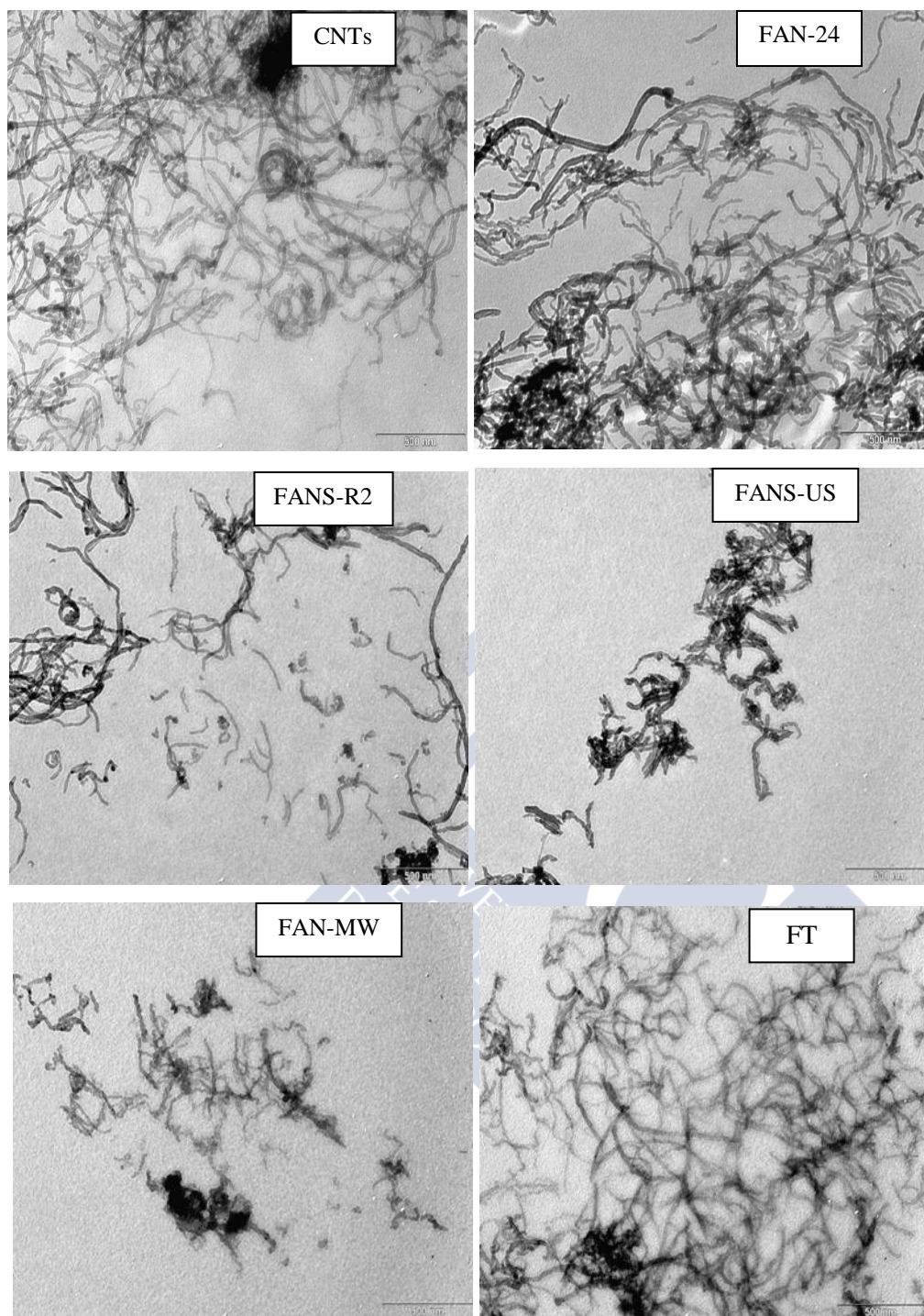


Figura 46. Micrografía TEM (escala 500 nm) de la muestra de nanotubo sin tratar (CNTs) y de las muestras funcionalizadas FAN-24, FANS-R2, FANS-US, FAN-MW y FT.

En la Figura 47, se muestran las micrografías, a la escala de 200 nm, para los nanotubos sin tratar y para los nanotubos tratados por funcionalización ácida a reflujo con mezcla de ácidos (FANS-R2). En ellas se observa que los MWCNTs funcionalizados mediante este procedimiento muestran una superficie más rugosa que los no tratados. De acuerdo con la

bibliografía [19], este hecho es indicativo de la generación de grupos carboxilo, carbonilo e hidroxilo en la superficie del nanotubo.

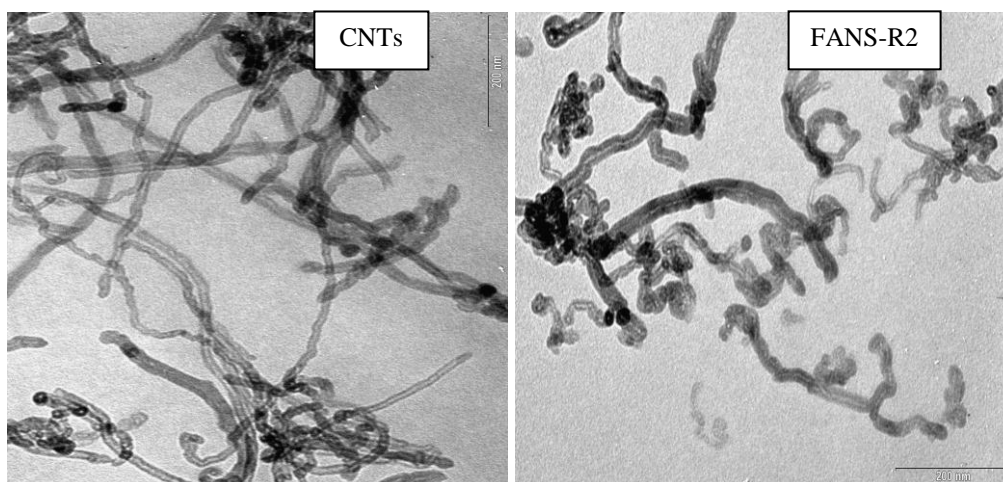


Figura 47. Micrografía TEM, escala 200 nm, muestra sin tratar y muestra FANS-R2.

3.1.3.2. Ensayos de sedimentación

Los ensayos de sedimentación se basan en la observación de la sedimentación gradual de un sólido presente en una disolución al dejarla en reposo durante un período de tiempo. Según Xing y col. [19], este tipo de pruebas permiten el estudio de la funcionalización de los nanotubos de carbono de forma cualitativa. Cuando en las paredes de los nanotubos se generan grupos hidroxilo y carbonilo por oxidación, éstos adquieren una carga superficial negativa, lo que produce repulsión entre nanotubos, evitando su agregación y favoreciendo su dispersión en disolución. Evaluando la sedimentación es posible estimar cualitativamente la cantidad de grupos originados mediante el proceso de oxidación en la superficie de los CNTs. En la Figura 48, se observa la dispersión en un medio orgánico (etanol) de los CNTs puros y de algunos de los CNTs oxidados (FAN-24, FAN-R1, FAN-R4, FANS-US, FAN-MW, FAS-MW, FT) en el instante inicial y al cabo de 15 minutos.

En la Figura 48A se observa que en el instante inicial todas las muestras se mantienen en dispersión, salvo la muestra sin tratar y la muestra FAN-24 que se sedimentaron casi inmediatamente.

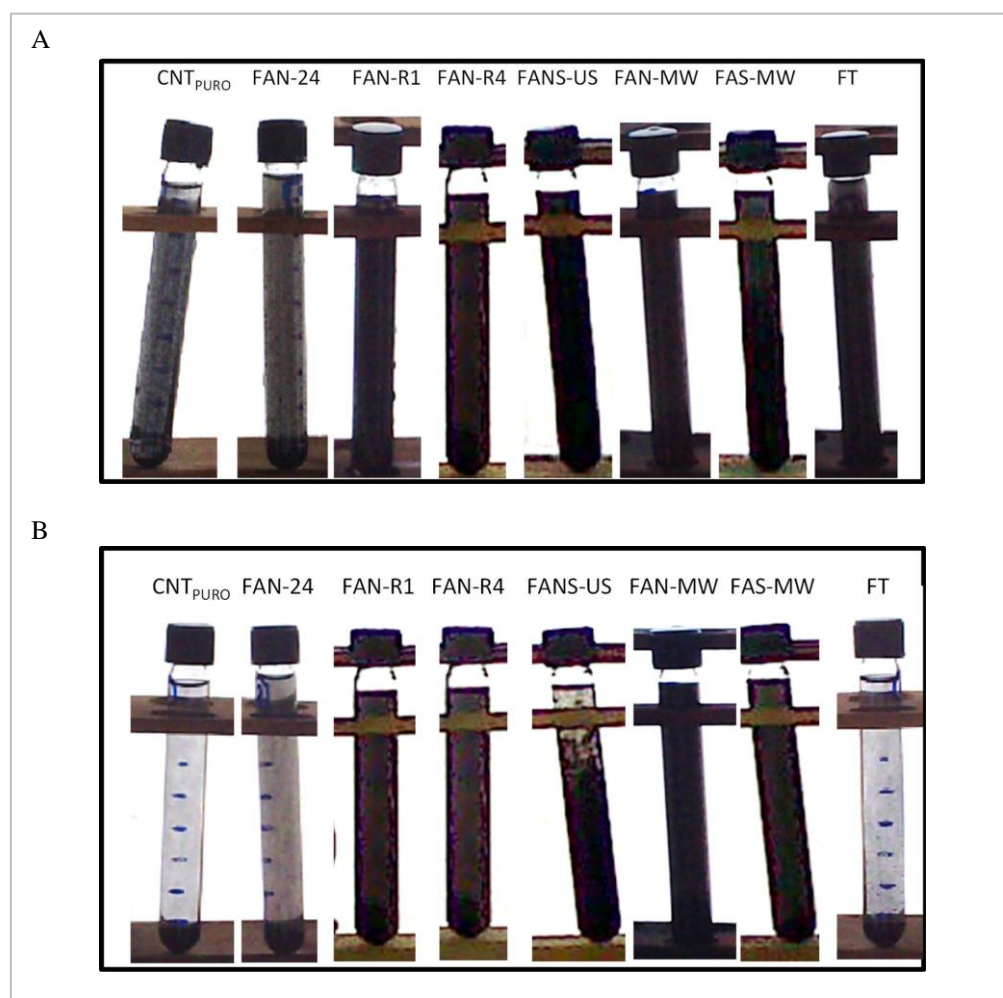


Figura 48. Fotografías de los ensayos de sedimentación A) en el instante inicial, B) transcurridos 15 minutos.

Transcurridos 15 minutos (Figura 48B), se aprecia como las muestras sometidas a reflujo, asistidas con ultrasonidos y con microondas son las únicas que permanecen dispersas (y continúan estándolo tras varias horas e incluso varios días). Este hecho indica que las muestras sometidas a este tipo de tratamientos son aquellas que han incorporado mayor número de grupos funcionales carbonilo, carboxilo e hidroxilo en la superficie del nanotubo. Si se tienen en cuenta las variaciones dentro de un mismo procedimiento, en el caso de las funcionalizaciones ácidas con reflujo, al aumentar el tiempo de reflujo se ha conseguido un mayor tiempo de dispersión (sin sedimentación), mientras que en el caso de las diferentes opciones estudiadas basadas en la energía de microondas, las que han permanecido más tiempo en dispersión han sido la FAN-MW y la FAS-MW.

3.1.3.3. Análisis por espectroscopía de infrarrojo

Se realizaron medidas por espectroscopía de infrarrojo, de acuerdo con lo descrito en la Sección 3.1.2.3.3, para los nanotubos de carbono brutos y los nanotubos funcionalizados mediante los distintos procedimientos. Los espectros obtenidos en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} se hallan recogidos en la Figura 49.

En el caso de los CNTs sin tratar, el espectro de IR muestra una banda de absorción característica a 3443 cm^{-1} , atribuida a la vibración del -OH , y otra banda a 1600-1450 cm^{-1} asignada a la vibración del enlace C=C , bandas que en comparación con las encontradas en las muestras funcionalizadas son insignificantes [28]. La presencia de estos grupos en la muestra sin tratar puede ser debida a los procesos de purificación a que se ha sometido el material bruto y/o a la oxidación del ambiente [23,29]. Tras los tratamientos de oxidación, se observa que el espectro varía, a veces de forma importante, apareciendo nuevos picos y modificándose la intensidad de algunas de las bandas obtenidas.

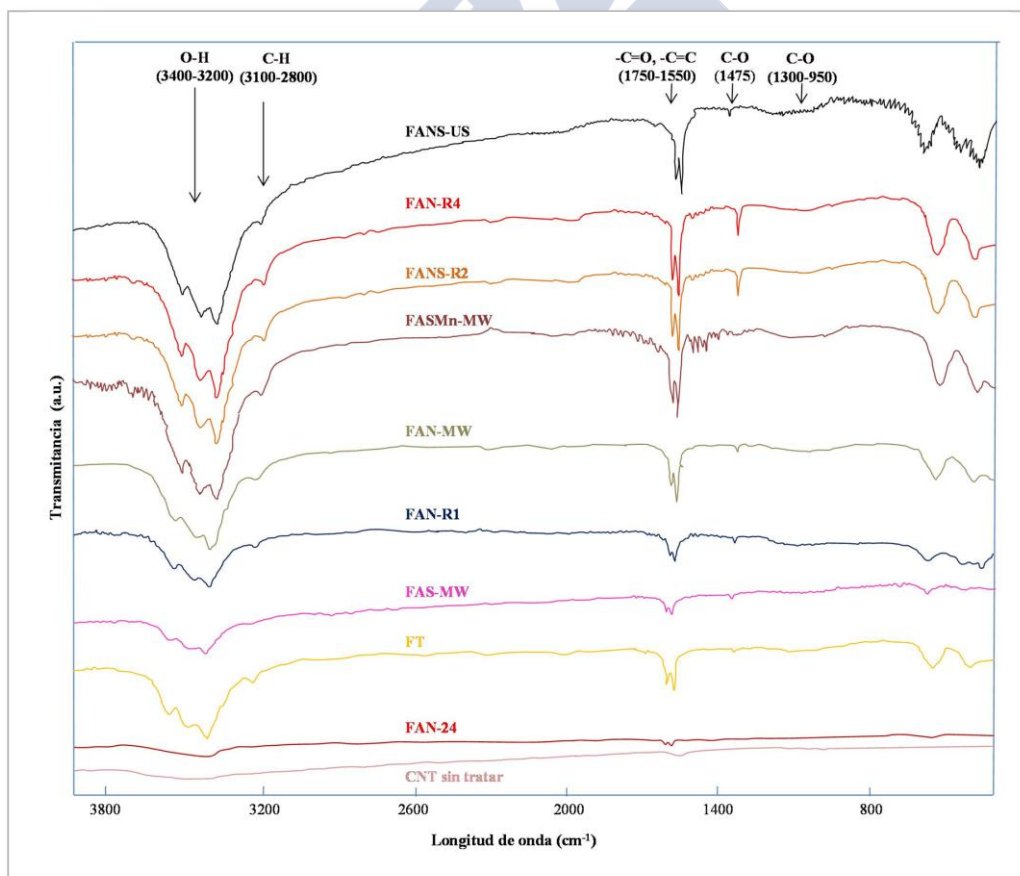


Figura 49. Espectro FT-IR para la muestra sin tratar y las muestras funcionalizadas (FAN-24, FAN-R1, FAN-R4, FANS-R2 FANS-US, FAS-MW, FAN-MW, FASm-MW, y FT).

De los espectros obtenidos para los nanotubos brutos y después de ser sometidos a los procesos de funcionalización propuestos, se podría concluir que la alta simetría que presentan los CNTs brutos genera señales de infrarrojo muy débiles debido a que están ligeramente cargados, lo que genera dipolos inducidos débiles, que provocan un espectro muy tenue [28].

Los picos que aparecen entre 2800 y 3500 cm^{-1} , son los característicos de la vibración por tensión de las uniones C-H y O-H. Estas señales se relacionan con los grupos hidroxilo y carboxilo, y aparecen en mayor o menor extensión en todos los tratamientos de funcionalización realizados [28].

Las bandas en el intervalo 1750 - 1550 cm^{-1} , pueden asignarse a grupos C=O en diferentes ambientes (ácidos carboxílicos, cetonas/quinonas) y a C=C en anillos aromáticos [30]. La banda a longitudes de onda en torno a 1600 - 1450 cm^{-1} es probablemente debida a C=C en carbonos aromáticos o a enlaces insaturados; un pico estrecho en torno a 1640 cm^{-1} es asignado a grupos carbonilo de compuestos tipo quinonas y el pico a 1740 - 1700 cm^{-1} , es asignado a la vibración por tensión de los grupos carboxílicos [31]. En nuestros tratamientos, se puede observar que estos picos van transformándose, unos en otros, así por ejemplo, parece que va disminuyendo el pico C=C, indicando que se están oxidando, y dando lugar a compuestos con grupos carbonilo C=O en mayor extensión que compuestos con grupos carboxílicos [32]. La banda en el intervalo de 1300 - 950 cm^{-1} indica la presencia de enlaces C-O en varios entornos químicos. El incremento relativo de esta banda, indica un incremento en la cantidad de grupos oxigenados en la superficie de los CNTs (deformación O-H y tensión C-O ocasionados por fenoles, hidroquinonas y ácidos carboxílicos aromáticos) [30]. En algunos tratamientos ácidos aparece un pico aproximadamente a 1475 cm^{-1} , el cual se corresponde a la tensión del enlace C-O indicando la introducción de grupos carboxílicos en la superficie del nanotubo por la oxidación [28].

La observación de los espectros IR obtenidos sugiere que la oxidación ocurre en mayor o menor medida en todos los tratamientos, excepto en FAN-24, siendo los tratamientos más efectivos los realizados en medio ácido, ya sea empleando energía de microondas, reflujo o ultrasonidos, ya que en todos ellos se ha conseguido la formación de grupos oxigenados.

3.1.3.4. Análisis por espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

La técnica analítica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) permite determinar la composición elemental de una región superficial medida y es muy sensible al entorno químico de cada átomo, permitiendo dilucidar el estado de la superficie de los nanotubos de carbono después de la modificación realizada mediante las diferentes funcionalizaciones ensayadas.

El porcentaje de O en las superficies de los nanotubos estudiados a una profundidad de prueba de ~ 5 nm fue determinada por esta técnica a partir de la relación de átomos de C/O, relación que a su vez se calculó a partir de las respectivas áreas formadas al descomponer los diferentes picos de los espectros C_{1s} , O_{1s} y usando factores de sensibilidad de 0.3 (C) y 0.71 (O) [33].

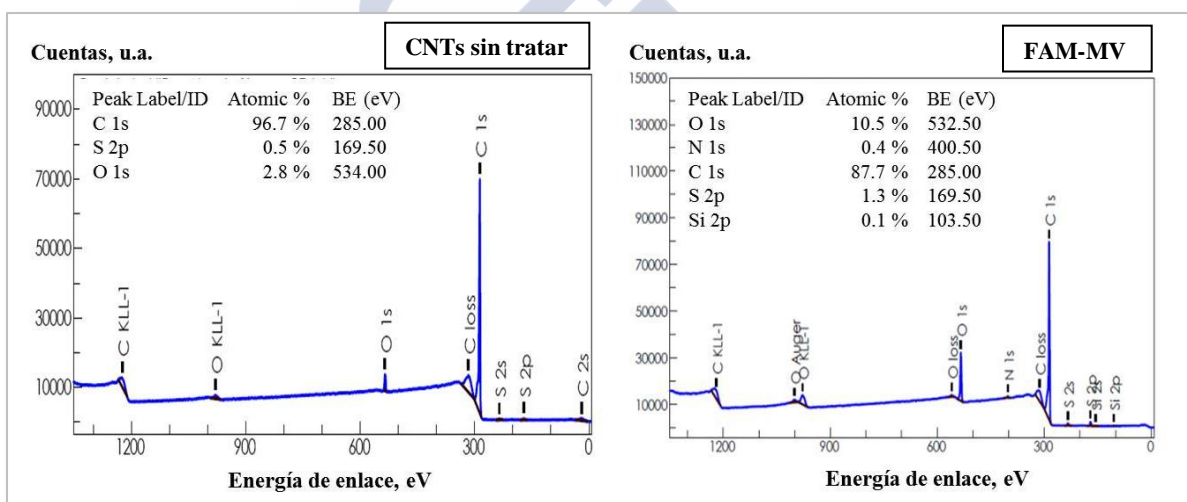


Figura 50. Espectros XPS, vista general, para la muestra de nanotubos de carbono sin tratar y tratada con microondas (FAN-MW).

En la Figura 50 se muestran, como ejemplo, dos de los espectros panorámicos obtenidos al realizar el análisis XPS (para nanotubos puros sin tratar y nanotubos sometidos al procedimiento FAN-MW). En primer lugar cabe indicar que incluso en las muestras de CNTs no tratados existe un porcentaje considerable de oxígeno, en torno al 2.8 % (tal y como ya se había señalado en la interpretación de los análisis de IR), elemento que estaría formando parte de diferentes grupos funcionales tales como carbonilo, hidroxilo y grupos ácidos carboxílicos presentes en la superficie del nanotubo. De estos espectros también se puede concluir que los elementos principales son carbono y oxígeno, aunque se detectó en todas las muestras una

señal de azufre en una concentración comprendida entre el 0.4 y el 1.6 %, dependiendo del tratamiento.

De los resultados obtenidos en el análisis XPS se puede establecer que con los tratamientos oxidativos se ha conseguido aumentar el porcentaje de oxígeno respecto a la muestra sin tratar (véase Figura 51), encontrándose el valor máximo de oxígeno para la muestra oxidada a reflujo FAN-R4 con un 85 % de carbono y un 13 % de oxígeno, seguida de las muestras funcionalizadas con microondas FASMn-MW y FAN-MW (86-88 % de C y un 12-10 % de O, respectivamente). Estos resultados coinciden con las conclusiones obtenidas en los estudios de dispersión, puesto que justamente estas muestras son las que permanecían mayor tiempo en dispersión (sin observarse sedimentación alguna).

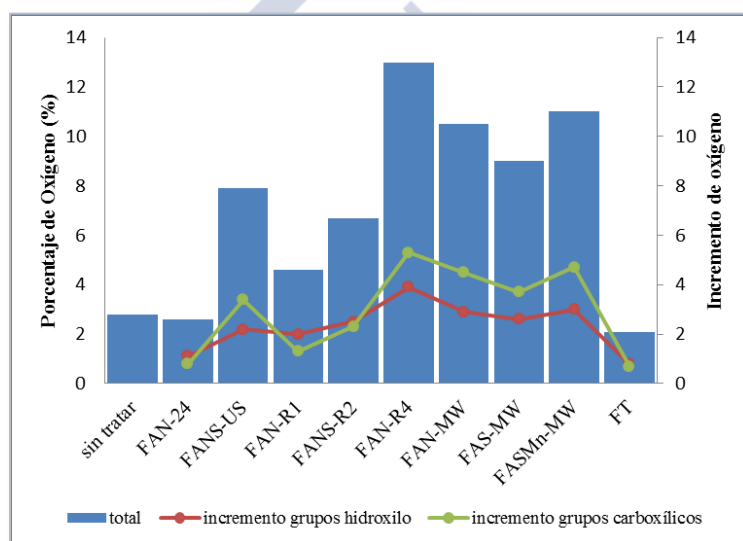


Figura 51. Porcentaje de oxígeno encontrado en cada muestra de nanotubos sometida a diferentes tratamientos mediante análisis XPS (■), e incremento de la cantidad de oxígeno en grupos hidroxilo (—●—) y grupos carboxílicos (—◆—) respecto a la muestra sin tratar.

Si se comparan los porcentajes de oxígeno encontrados en las muestras preparadas con los publicados por otros autores, se observa que en los valores indicados por Xia y col. [34] en el material sin tratar presenta un 2.8 % de O, mientras que con un tratamiento ácido se alcanza un porcentaje de oxígeno del 11.5 %, valores semejantes a los obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, otros autores han obtenido valores mayores, así Lakshminarayanan y col. [33] indican un 6.3 % de oxígeno en nanotubos sin tratar y un

22.5 % tras estudiar el efecto de la oxidación con ácido nítrico a reflujo. También Hojati-Talemi y col. [14] han publicado valores de 0.70 % y 36.58 %, respectivamente.

Al estudiar de forma individual el pico del espectro del C_{1s} del grafito se observa que es un pico asimétrico con una larga cola extendida a regiones de mayor energía de enlace. Este espectro se puede descomponer con una función suma Gaussiana-Lorentziana, centrada a 284.3 eV, obteniéndose varios picos simétricos gaussianos que representan las contribuciones de los carbonos unidos a otro átomo de carbono (C-C), a un átomo de H (C-H) o a átomos de C funcionalizados [4]. La Figura 52A muestra, a modo de ejemplo, los espectros de alta resolución para el C_{1s} , de la muestra sin tratar y la tratada con ácido nítrico en microondas (FAN-MW). Para todas las muestras funcionalizadas se ha observado una ligera asimetría de este pico respecto al de la muestra sin tratar (ver Figura 52B), atribuible al aumento de la oxidación, causando un incremento en el desorden en la estructura del CNT [35].

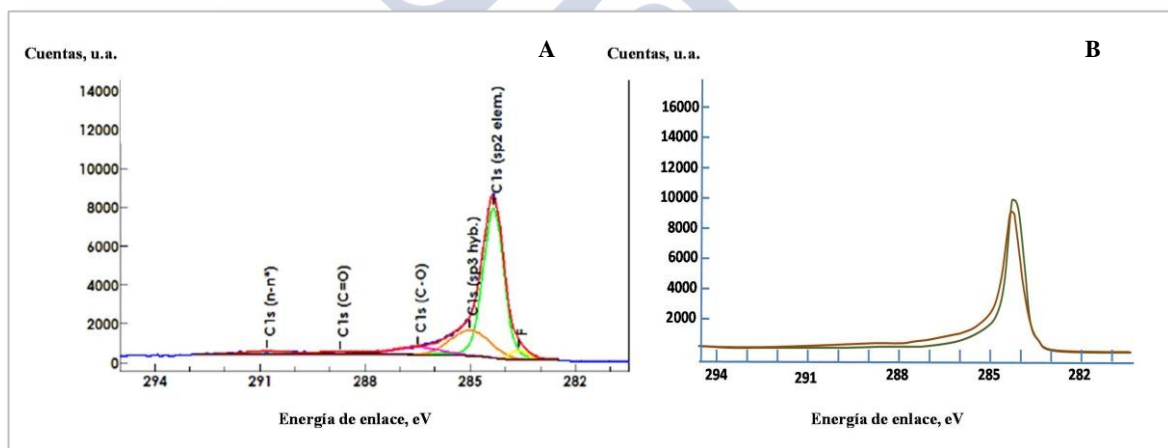


Figura 52. A) Espectro de alta resolución para el ajuste de la señal del C_{1s} en las muestras de nanotubos sin tratar, B) comparación del espectro de alta resolución para la señal C_{1s} en las muestras de CNTs sin tratar (—) y tratadas FAN-MW (—).

En la descomposición de la señal de C_{1s} se observa un pico principal, que aparece a 284.36 eV, procedente de los átomos de carbono con hibridación sp^2 y de los átomos de carbono unidos al hidrogeno. En la imagen ampliada de este espectro (Figura 52A) se puede ver como las zonas de mayor energía (en torno a 284.86; 285.76; 286.58 y 287.81 eV) se asignaron a los picos asociados a los grupos funcionales C-H, C-O (alcohol y cetona), O-C=O (carboxílico y éster) [4,29]. El pico que aparece a 285.03 eV, en algunos casos, también se relaciona con el carbón amorfo y con los defectos estructurales de los nanotubos [14],

observándose en todos los casos, una disminución de este pico tras la oxidación, por lo que estos tratamientos no han sido tan agresivos como para provocar un aumento de los defectos, pero si han actuado como un proceso de purificación.

La cantidad relativa de los diferentes grupos funcionales señalados se ha comprobado que varía de acuerdo con la técnica de funcionalización empleada. Si se compara el ancho del pico a la mitad de su altura para el nanotubo bruto y los nanotubos funcionalizados, se observa que los picos C_{1s} para los nanotubos funcionalizados tienen un valor ligeramente mayor, ya que un incremento en la funcionalización provoca un mayor desorden en la estructura del CNT, y por ello se aumenta el ancho de la línea espectral [4], tal y como se puede ver en la Figura 52B, correspondiente al tratamiento FAN-MW. Los tratamientos ácidos con suministro adicional de energía (FAN-R1, FAN-R4, FANS-US, FAN-MW, FAS-MW y FASMn-MW) fueron, en general, en los que se observó en mayor medida este comportamiento

En la Figura 53A se puede observar el aspecto descompuesto del espectro del pico O_{1s} . En él se comprueba que se obtienen dos señales, una a 532.74 eV para los grupos oxígeno-carbonilo de los átomos de O unidos al C por un enlace sencillo (pico I) y otra a 531.02 eV, que fue asignada a los átomos de oxígeno con una conexión éster entre los dos átomos de carbono (pico II). En la Figura 53B se comparan los espectros obtenidos para la muestra sin tratar y la muestra tratada con microondas FAN-MW.

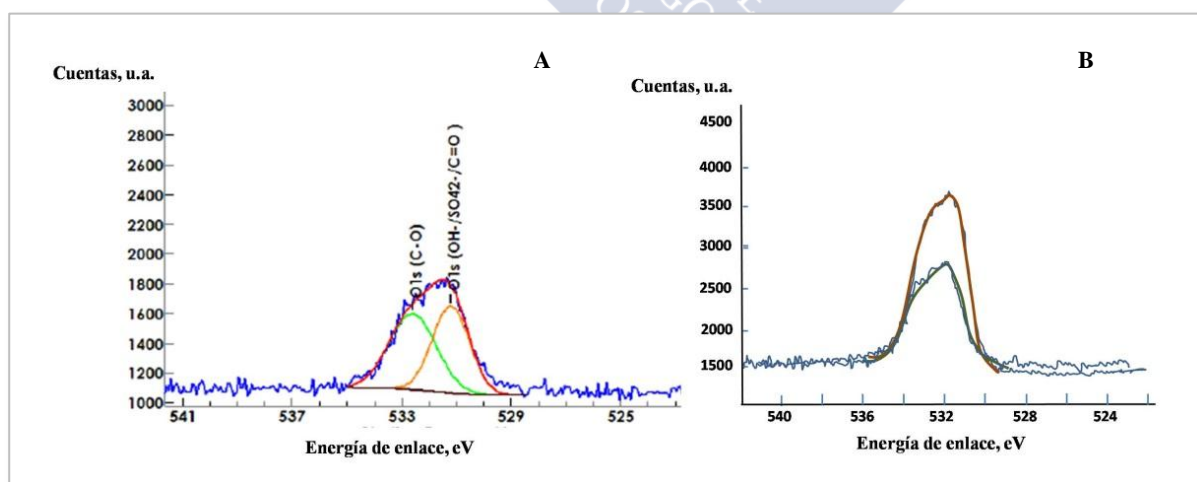


Figura 53. A) Espectro de alta resolución para el ajuste de la señal del O_{1s} en las muestras de nanotubos sin tratar, B) Comparación del espectro de alta resolución para la señal O_{1s} en las muestras de CNTs sin tratar (—) y tratadas FAN-MW (—).

Al evaluar el incremento de los grupos funcionales con oxígeno, con respecto a la muestra sin tratar (Figura 51) se observa claramente que los tratamientos ácidos con reflujo, microondas o ultrasonidos son los que presentan un mayor aumento de estos grupos funcionales en comparación con la muestra sin tratar. Además es necesario indicar que, dentro de las funcionalizaciones realizadas con energía de microondas, el aumento fue mayor cuando se empleó KMnO_4 (FASMn-MW), mientras que en los tratamientos realizados a reflujo, el mejor resultado se obtuvo con 4 horas de duración (FAN-R4). En el tratamiento térmico (FT), se observa que apenas hay grupos oxigenados, lo que confirma que no es un procedimiento de funcionalización óptimo. Estos resultados son concordantes con los obtenidos de los espectros de IR, donde la aparición de bandas relacionadas con grupos conteniendo oxígeno es más acusada en los nanotubos tratados por funcionalización ácida a reflujo, funcionalización ácida con ultrasonidos y funcionalización ácida con microondas.

3.1.3.5. Análisis por valoración ácido-base de Boehm

El método de valoración de Boehm se utiliza para cuantificar los grupos oxigenados existentes en la superficie de las muestras sometidas a oxidación, a través de una valoración ácido-base, usando NaOH , que neutraliza todos los grupos ácidos de la superficie. Se cuantificaron mediante esta técnica los mili-moles de oxígeno ácido por gramo de nanotubo en las muestras en las que se habían obtenido mejores resultados con las técnicas empleadas previamente. En la Tabla 13 se resumen los resultados obtenidos.

Tabla 13. Comparativa entre grupos funcionales totales obtenidos mediante la valoración Boehm.

Tratamiento	FAN-R4	FANS-R2	FANS-US	FAN-MW	FAS-MW	FASMn-MW
Oxígeno ácido (mmol g ⁻¹)	4.02	0.61	3.42	1.61	0.92	3.02

Tras llevar a cabo el análisis de las muestras sometidas a los diferentes procesos de funcionalización, se llega a la conclusión de que el tratamiento que genera un mayor número de grupos funcionales totales es el correspondiente a la funcionalización ácida con reflujo durante 4h (FAN-R4), seguido de la funcionalización ácida con sonicación (FANS-US) y la funcionalización ácida con H_2SO_4 y KMnO_4 asistida con microondas FASMn-MW. Los resultados de las valoraciones demuestran que un incremento en la severidad de la oxidación,

provoca un aumento de los grupos ácidos en la superficie, lo que está de acuerdo con los resultados encontrados en los análisis de XPS y en los ensayos de dispersión realizados. Se ha hecho un estudio de la capacidad de adsorción de los CNTs seleccionados, observándose que esta es muy superior a 4 mg L^{-1} tanto para el Cd como para el Pb en muestras de orina, las cuales son concentraciones muy superiores a las encontradas en análisis de trazas.

3.1.3.6. Empleo de los CNTs en columnas de SPE

Una vez establecidos cuáles son los procesos de funcionalización que producen un mayor número de grupos ácidos en la superficie de los nanotubos (y por consiguiente generan una mayor dispersión del nanomaterial y una mejor capacidad de adsorción en SPE), se planteó el estudio del grado de operatividad de los mismos al ser dispuestos en una columna como material adsorbente. Después de numerosas pruebas, se observó que, tanto para los CNTs funcionalizados por reflujo ácido de 4 h (FAN-R4), como con tratamiento ácido en ultrasonidos (FAN-US), las columnas resultaban inoperativas, ya que al poco tiempo de uso se producen sobrepresiones en el sistema. La interpretación de este hecho es posiblemente que, al ser ambos tratamientos demasiado drásticos producen la ruptura de los nanotubos, lo que provoca que la columna se rellene de forma tan compacta que dificulta el flujo de la muestra. Se ensayaron diferentes estrategias para evitar estas sobrepresiones: lavar con mezcla de etanol y ácido nítrico, someterlas a tratamiento en ultrasonidos, rellenar con menos cantidad de CNTs, variar diámetro y longitud de la columna, etc. Pero únicamente se logró trabajar de forma adecuada y reproducible usando masas de nanotubos en la columna no superiores a 50 mg, con columnas de longitud 35-40 mm y un diámetro interno de 4 mm (ver Figura 45), y empleando nanotubos funcionalizados con microondas FASMn-MW, que son los que se utilizaron en los estudios posteriores. Estos CNTs presentaron un adecuado grado de funcionalización y permitirán un flujo de muestra reproducible sin obstrucciones ni sobrepresiones.

A lo largo del desarrollo de la presente tesis doctoral, a medida que se fueron empleando los nanotubos, obtenidos por los procesos antes indicados, en columnas de SPE, se observó, que, aunque la reproducibilidad entre columnas era adecuada (por ej. RSD: 3.4–9.8 % para la determinación del Cd) ésta aún podría mejorarse si el tratamiento FASMn-MW se modificaba realizando el calentamiento con reflujo en lugar de emplear energía de microondas pero

empleando la misma mezcla de reactivos H_2SO_4 y KMnO_4 (RSD: 3.2-6.8 %). Este tipo de tratamiento permite llevar a cabo una buena agitación durante todo el proceso, con lo que se obtienen muestras de nanotubos con una funcionalización más uniforme. Así mismo, se constató que si los CNTs eran previamente purificados a través de un tratamiento con ácido clorhídrico (6M) durante 3 horas a reflujo, se mejoraba todavía más la reproducibilidad entre columnas.

3.1.4. Conclusiones

Se han estudiado diferentes estrategias para la funcionalización con grupos oxigenados de los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs). Se observa que se consigue un mayor tiempo de dispersión en las disoluciones polares, así como la presencia de mayor número de grupos funcionales detectados por IR, y un mayor porcentaje de oxígeno y grupos hidróxido y carboxilo en los nanotubos tratados por funcionalización ácida con energía de ultrasonidos, microondas o a reflujo. Aunque, en algunos casos, el tratamiento ha sido tan severo que ha provocado que los nanotubos así tratados no puedan ser empleados en el empaquetamiento de las columnas de SPE, al provocar sobrepresiones imposibles de evitar. Por ello se optó por trabajar con nanotubos de carbono funcionalizados mediante un tratamiento ácido (con ácido sulfúrico y permanganato potásico, FASMn-MW) asistido por microondas, ya que los CNTs así funcionalizados presentaron un adecuado grado de funcionalización y permitirán un flujo de muestra reproducible sin obstrucciones ni sobrepresiones. También se ha comprobado que este mismo tratamiento, realizado a reflujo, y con una etapa previa de purificación permite obtener un relleno con un comportamiento aún más reproducible.

3.1.5. Referencias

- [1] R. Yavari, Y. D. Huang, A. Mostofizadeh. Sorption of strontium ions from aqueous solutions by oxidized multiwall carbon nanotubes. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 285 (2010) 703-710.
- [2] X. Liang, S. Liu, S. Wang, Y. Guo, S. Jiang. Carbon-based sorbents: Carbon nanotubes. *Journal of Chromatography A* 1357 (2014) 53-67.
- [3] C. M. Hussain, S. Mitra. Micropreconcentration units based on carbon nanotubes (CNT). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399 (2011) 75-89.
- [4] C. H. Lau, R. Cervini, S. R. Clarke, M. G. Markovic, J. G. Matison, S. C. Hawkins, C. P. Huynh, G. P. Simon. The effect of functionalization on structure and electrical conductivity of multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoparticle Research* 10 (2008) 77-88.
- [5] A. Stafiej, K. Pyrzynska, Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes. *Separation and Purification Technology* 58 (2007) 49-52.
- [6] W. Xue and P. Li Dielectrophoretic deposition and alignment of carbon nanotubes. *Carbon nanotubes-Synthesis, characterization, applications*. InTech, (2011).
<http://www.intechopen.com/books/carbon-nanotubes-synthesis-characterization-applications/dielectrophoretic-deposition-and-alignment-of-carbon-nanotubes>
- [7] A.H. El Sheik, Effect of oxidation of activated carbon on its enrichment efficiency of metal ions: comparison with oxidized and non-oxidized multi-walled carbon nanotubes. *Talanta* 75 (2008) 127-134.
- [8] Y.H. Li, J. Ding, Z. Luan, Z. Di, Y. Zhu, C. Xu, D. Wu, B. Wei. Competitive adsorption of Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} ions from aqueous solutions by multiwalled carbon nanotubes. *Carbon* 41 (2003) 2787-2792.
- [9] R.C. Teixeira, F. Barbosa, G. Segatelli, M.C. Figueirido, P. Orival. Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at $ng\ L^{-1}$ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 21 (2006) 1305-1313.
- [10] T. Park, S. Banerjee, T. Hemraj, S. Wong. Purification strategies and purity visualization techniques for single-walled carbon nanotubes. *Journal of Materials Chemistry* 16 (2006) 141-154.
- [11] K.L. Lu, R.M. Lago, Y.K. Chen, M.L.H. Green, P.J.F. Harris, S.C. Tsang. Mechanical damage of carbon nanotubes by ultrasound. *Carbon* 34 (1996) 814-816.
- [12] C. Yang, X. Hu, Y. Zhang. A Study of the functionalization on multi-walled carbon nanotubes. 1st IEEE international conference on nano/micro engineered and molecular systems, Zhuhai, China. (2006) 18-21.
- [13] U.O. Mendez, O.V. Kharissova, M. Rodriguez. Synthesis and morphology of nanostructures via microwave heating. *Reviews on Advanced Materials Science* 5 (2003) 398-402.
- [14] P. Hojati-Talemi, R. Cervini, G.P. Simon. Effect of different microwave-based treatments on multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoparticle Research* 12 (2010) 393-403.
- [15] Y. Wang, Z. Iqbal, S. Mitra. Microwave-induced rapid chemical functionalization of single-walled carbon nanotubes. *Carbon* 43 (2005) 1015-1020.
- [16] C. Kuo, H. Lin. Adsorption of aqueous cadmium (II) onto modified multi-walled carbon nanotubes following microwave/chemical treatment. *Desalination* 249 (2009) 792-796.

- [17] P. Liang, Y. Liu, L. Guo, J. Zeng, H. Lu. Multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbent for the preconcentration of trace metal ions and their determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19 (2004) 1489-1492.
- [18] I.D. Rosca, F. Watari., M. Uo, T. Akasaka. Oxidation of multiwalled carbon nanotubes by nitric acid. *Carbon* 43 (2005) 3124-3131.
- [19] L. Xing, Y.C. Li, C.C. Chusuei, R.V. Hull. Sonochemical oxidation of multiwalled carbon nanotubes. *Langmuir* 21 (2005) 4185-4190.
- [20] D.Q. Yang, J.F. Rochette, E. Sacher. Functionalization of multiwalled carbon nanotubes by mild aqueous sonication. *Journal of Physical Chemistry B* 109 (2005) 7788-7794.
- [21] T.J. Imholt, C.A. Dyke, B. Hasslacher, J.M. Pérez, D.W. Price, J.A. Roberts, J.B. Scott, A. Wadhawan, Z. Ye, J.M. Tour. Nanotubes in Microwave Fields: Light Emission, Intense Heat, Outgassing, and Reconstruction. *Chemistry of Materials* 15 (2003) 3969-3970.
- [22] <http://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/microscopia/transmision.html>, Unidad de Microscopía Electrónica y Confocal, Universidad de Santiago de Compostela (último acceso: 17 de mayo de 2010).
- [23] F. Avilés, J.V. Cauich-Rodríguez, L. Moo-Tah, A. May-Pat, R. Vargas-Coronado. Evaluation of mild acid oxidation treatments for MWCNT functionalization. *Carbon* 47 (2009) 2970-2975.
- [24] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman. *Principio de Análisis instrumental*. McGrawHill. Madrid (2000).
- [25] H.P. Boehm. Chemical identification of surface groups. *Advances in catalysis*. Academic Press (1966) 179-274.
- [26] B. Scheibe, E. Borowiak-Palen, R.J. Kalenczuk. Oxidation and reduction of multiwalled carbon nanotubes - preparation and characterization. *Materials characterization* 61 (2010) 185-191.
- [27] S.L. Goertzen, K.D. Thériault, A. A. Heater. Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. *Carbon* 48 (2010) 1252-1261.
- [28] A.G. Osorio, I.C.L. Silveira, V.L. Bueno, C.P. Bergman. H₂SO₄/HNO₃/HCl-functionalization and its effect on dispersión of carbon nanotubes in aqueous media. *Applied Surface Science* 255 (2008) 2485-2489.
- [29] C. Chen, A. Ogino, X. Wang, M. Nagatsu. Plasma treatment of multiwall carbon nanotubes for dispersion improvement in water. *Applied Physics Letters* 96 (2010) 1-3.
- [30] L. Stobinski, B. Lesiak, L. Köver, S. Biniak, G. Trykowski, J. Judek. Multiwall carbon nanotubes purification and oxidation by nitric acid studies by the FTIR and electron spectroscopy methods. *Journal of Alloys and Compounds* 501 (2010) 77-84.
- [31] R. Yudianti, H. Onggo, Sudirman, Y. Saito, T. Iwata, J. Azuma. Analysis of functional group sited on multi-wall carbon nanotubes surface. *The Open Materials Science Journal* 5 (2011) 243-247.
- [32] M.V. Naseh, A. A. Khodadadi, Y. Mortazavi, O. A. Sahraei, F. Pourfayaz, S.M. Sedghi. Functionalization of carbon nanotubes using nitric acid oxidation and DBD Plasma. *World Academy of Science, Engineering technology* 49 (2009) 177-179.
- [33] P.V. Lakshminarayanan, H. Toghiani, C.U. Pittman Jr. Nitric acid oxidation of vapor grown carbon nanofibers. *Carbon* 42 (2004) 2433-2442.
- [34] W. Xia, Y. Wang, R. Bergsträßer, S. Kundu, M. Muhler. Surface characterization of oxygen-functionalized multi-walled carbon nanotubes by high-resolution X-ray photoelectron

spectroscopy and temperature programmed desorption. *Applied Surface Science* 254 (2007) 247-250.

- [35] T.I.T. Okpalugo, P. Papakonstantinou, H. Murphy, J. McLaughlin, N.M.D. Brown. High resolution XPS characterization of chemical functionalized MWCNTs and SWCNTs. *Carbon* 43 (2005) 153-161.



3.2. NUEVO MÉTODO DE PRECONCENTRACIÓN MEDIANTE INYECCIÓN EN FLUJO BASADO EN NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE PARA LA DETERMINACIÓN DE CADMIO EN ORINA POR ETAAS

Jennifer Álvarez Méndez, Julia Barciela García, Rosa M. Peña Crecente,
Sagrario García Martín, Carlos Herrero Latorre

TALANTA 85 (2011) 2361–2367

RESUMEN

Se ha desarrollado un nuevo método de inyección en flujo (FIA) para la preconcentración de Cd en orina usando nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) como adsorbente y su posterior determinación por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). El cadmio fue retenido en una columna empaquetada con MWCNTs previamente oxidados y eluido cuantitativamente con una disolución de ácido nítrico. Se estudiaron los parámetros que influyen en el proceso de adsorción-elución como el pH de la muestra, la cantidad de adsorbente y las velocidades de flujo de muestra y eluyentes. La concentración de Cd en el eluyente se determinó mediante ETAAS en las condiciones óptimas obtenidas. Los resultados logrados muestran la eliminación del efecto matriz de la orina como consecuencia del proceso de preconcentración empleado. Se consiguió la recuperación total del cadmio presente en la orina trabajando con un pH de muestra de 7.2, empleando una columna con 45 mg de MWCNTs y una disolución de HNO_3 0.5 mol L^{-1} como eluyente. El límite de detección del método propuesto fue de $0.010 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y se logró un factor de preconcentración de 3.4. Además se obtuvieron una precisión (RSD: 3.4-9.8 %) y exactitud (recuperación media: 97.4-100 %) adecuadas. El método desarrollado se aplicó a la determinación de cadmio en muestras de orina de personas sanas (en el rango de $0.14\text{-}2.94 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) con resultados satisfactorios.

3.2.1. Introducción

El cadmio es un metal tóxico sin ningún papel fisiológico positivo en el cuerpo humano, que se relaciona con diferentes enfermedades pulmonares, renales y óseas dependiendo del tipo de exposición [1]. Este metal se acumula en el hígado y riñones, pudiendo ser su tiempo medio de acumulación en éstos últimos de una a cuatro décadas. Las principales fuentes de cadmio son el tabaco y la dieta en las personas no expuestas a él en su lugar de trabajo. Se han asociado los altos niveles de Cd con daños en el sistema nervioso central, el sistema inmunitario, problemas de fertilidad y la aparición de ciertos tipos de cáncer [2]. Además, hay estudios que indican el posible papel del cadmio en problemas de corazón [3]. La cantidad de Cd en orina está relacionada con su concentración en el riñón. Por todo ello, la concentración de cadmio en orina se considera el mejor bioindicador para valorar el grado de exposición del organismo a este metal a lo largo del tiempo [4,5], mientras que los niveles de cadmio en sangre reflejan tanto exposiciones recientes como acumulativas. La determinación de Cd en muestras medioambientales y biológicas y en el cuerpo humano es un procedimiento de evaluación (“*screening*”) para estudios de contaminación medioambiental y de exposición ocupacional [6], por todo ello las muestras de orina se han convertido en un objeto habitual de estudio para el desarrollo de métodos analíticos para la determinación de Cd [7]. La determinación de este elemento en dicha matriz es complicada, y las mayores dificultades se deben a que la concentración de cadmio en las muestras de orina es muy baja ($< 1 \mu\text{g L}^{-1}$) y a las severas interferencias de matriz asociadas a la compleja composición de la orina.

Las técnicas más empleadas en la determinación de Cd en orina son la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). La técnica de ICP-MS permite la detección de cadmio en niveles de nanogramos por litro, aunque presenta interferencias espectrales debidas al óxido de molibdeno (MoO) formado en el plasma caliente [8]. Empleando ETAAS se obtiene una sensibilidad suficiente que permite la determinación de este elemento en las concentraciones en que se encuentra normalmente en la orina ($0.3\text{-}1.2 \mu\text{g L}^{-1}$). Sin embargo, la determinación de este elemento es una tarea difícil debido a la complejidad de la muestra, la cual contiene cantidades considerables de numerosos compuestos tanto orgánicos como inorgánicos. Los cloruros y fosfatos, que aparecen en la orina en grandes cantidades, suprimen la absorción del cadmio (efectos químicos o de matriz)

y ambos causan una considerable absorción no selectiva. El uso de muestras diluidas o pre-tratadas, condiciones del horno con plataforma de temperatura estabilizada (STPF), diferentes modificadores de matriz y corrección de fondo Zeeman, pueden disminuir o suprimir tanto los efectos químicos como la absorción no selectiva. Aunque, en un gran número de casos este planteamiento no es suficiente para eliminar todos los problemas asociados a la determinación de Cd en orina [9].

La extracción del cadmio de la orina proporciona la posibilidad de concentrar el metal y al mismo tiempo separarlo de la compleja matriz de la muestra. Las técnicas de separación del Cd incluyen la extracción con disolventes y la extracción en fase sólida [4]. En los últimos años se han empleado sistemas de separación/preconcentración en fase sólida empleando la inyección en flujo (FI) debido a sus interesantes características tales como menor riesgo de contaminación, alto factor de preconcentración y la facilidad de acoplamiento con técnicas espectroscópicas [10]. Para construir sistemas *on-line* de adsorción de cadmio se han utilizado diferentes adsorbentes tales como resinas quelatantes con grupos funcionales selectivos unidos covalentemente a matrices de copolímeros, sílice con grupos octadecilo (C18), carbón activo, resinas de intercambio catiónico, resinas de intercambio iónico macroporosas, así como alúmina [6]. Recientemente se han desarrollado diferentes métodos de preconcentración por adsorción en nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) debido a que estos presentan una gran área superficial y una excelente capacidad de adsorción [11]. Los MWCNTs oxidados se han empleado en el desarrollo de estos sistemas para el análisis de trazas debido a su alta eficacia en la adsorción de iones metálicos [12-16]. La disposición hexagonal de los átomos en las láminas de grafeno de la superficie de los nanotubos de carbono (CNTs) da lugar una fuerte interacción con otras moléculas o átomos, que hacen de los CNTs un prometedor material adsorbente sustitutivo del carbón activo [17].

Este tipo de materiales ha generado un gran interés (debido a sus excepcionales propiedades químicas y físicas), estudiándose ampliamente su aplicación para procesos de preconcentración en un corto periodo de tiempo (del 2004 a la actualidad), aunque hay que indicar que la mayoría de estos métodos de preconcentración se han aplicado a muestras de agua [18-23] y sólo en un número escaso de estudios los métodos desarrollados se han destinado a matrices complejas tales como muestras biológicas [23-26].

Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, y estimando que no se ha desarrollado ningún método de preconcentración de Cd en orina basado en el uso de MWCNTs, el objetivo de este trabajo ha sido desarrollar un método de extracción *on-line*, por inyección en flujo, para la separación y preconcentración de cadmio en una muestra biológica como la orina y su posterior determinación por ETAAS. El método de preconcentración desarrollado se comparó cuantitativamente con otros métodos optimizados para la determinación directa de Cd en orina. Se ha demostrado el uso potencial de los MWCNTs, empaquetados en una microcolumna, como adsorbente para la preconcentración del Cd, y se ha comprobado la efectividad y eficiencia del sistema de extracción FIA al medir muestras de orina de personas no expuestas a este metal.

3.2.2. Parte experimental

3.2.2.1. Instrumentación

En el presente trabajo se empleó un espectrómetro de absorción atómica, Varian-SpectrAA-600 con corrector Zeeman, equipado con un atomizador electrotérmico Varian GTA-100 y un dispensador de muestra automático. Las medidas se realizaron a 238.8 nm, con una intensidad de corriente de 10 mA, empleando una lámpara de cátodo hueco. El ancho de banda utilizado fue de 0.5 nm en todos los casos. Se empleó argón como gas inerte a un flujo de 300 mL min⁻¹ y tubos recubiertos de grafito pirolítico con plataforma de atomización. El sistema FIA empleado estaba compuesto por una bomba peristáltica Gilson Minipuls-3 con tubos de Tygon de 1.42 mm de diámetro interno (Ismatec). Se emplearon tubos de conexión de PTFE (d.i. = 0.5 mm) y conectores (Omnifit). Las conexiones se mantuvieron siempre lo más cortas posible para minimizar los volúmenes muertos.

El sistema FIA, que se representa en la Figura 54 se diseñó de la manera más simple para permitir un elevado flujo de la muestra.

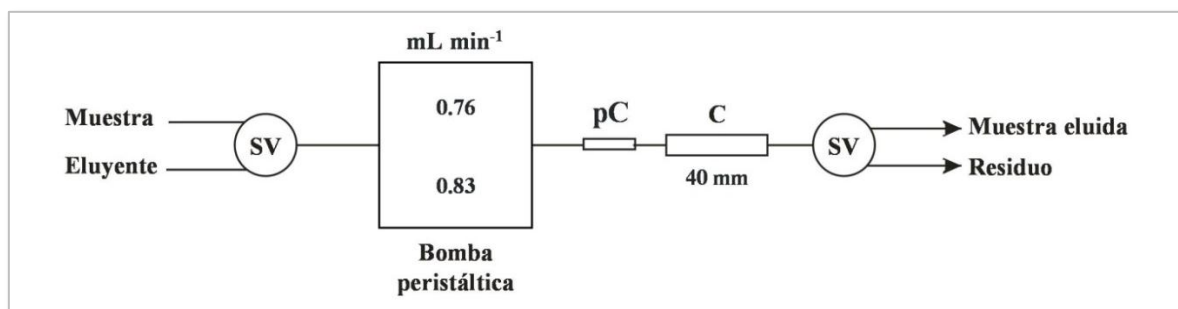


Figura 54. Esquema del sistema FIA empleado en el presente trabajo. SV, válvula de selección; pC, precolumna; C, columna.

3.2.2.2. Reactivos

La disolución patrón de Cd (1.0 g L^{-1}) se obtuvo en Panreac (Barcelona, España) y se diluyó adecuadamente para obtener las disoluciones patrón de trabajo. Los reactivos de nitrato de paladio y de magnesio y el dihidrógeno fosfato amónico se obtuvieron de Fluka (Suiza), las disoluciones de trabajo también se prepararon por dilución de una disolución patrón de 10 g L^{-1} . El modificador permanente de wolframio (1.0 g L^{-1}), se preparó pesando 179.4 mg de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, Alemania), disolviéndolo en agua y se llevó a un volumen de 25 mL.

Los MWCNTs sin tratar (pureza $> 95 \%$, 10-20 nm diámetro externo y $\sim 30 \mu\text{m}$ de longitud) preparados mediante deposición química en fase vapor (CVD) de acetileno en un flujo de hidrógeno, fueron suministrados por Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd. (China). Antes de su uso, fueron oxidados con H_2SO_4 y KMnO_4 de acuerdo con la bibliografía [27] y conforme al tratamiento FASMn-MW descrito en la Sección 3.1.2.2.

Todos los recipientes de muestra, viales del muestreador y otros materiales se lavaron con ácido nítrico al 10 % (v/v) durante 24 horas, se aclararon con abundante agua ultrapura y se secaron antes de su uso. La disolución de limpieza empleada para lavar el capilar de muestreo ha consistido en HNO_3 0.7 % (m/v) y Triton X-100 0.2 % (v/v).

3.2.2.3. Programa estadístico

Los diseños Plackett-Burman y composicional central, así como los gráficos de superficie y de contorno, se realizaron empleando el paquete estadístico Statgraphics 5.0 Plus.

3.2.2.4. Muestras de orina

Las diferentes muestras de orina de personas sanas se recogieron en recipientes de polipropileno sometidos a un lavado ácido. Estas muestras se trataron de la siguiente forma: 100 mL de cada muestra se acidificaron con 0.35 mL de HNO_3 concentrado y se diluyeron un 30 % (v/v) antes de su preconcentración y análisis. Cuando el análisis no se realizó de forma inmediata las muestras de orina se almacenaron a 4 °C en la oscuridad (manteniéndose almacenadas el menor tiempo posible).

3.2.2.5. Procedimientos analíticos

3.2.2.5.1. Método ETAAS directo para la determinación de cadmio en orina

500 μL de orina se mezclaron en el vial del automuestreador con 100 μL del HNO_3 (0.5 M) y se llevaron hasta 1000 μL con agua ultrapura. 20 μL de esta disolución se introdujeron en el tubo de grafito y se analizaron bajo las condiciones óptimas de ETAAS, resumidas en la Tabla 14, usando W como modificador permanente.

3.2.2.5.2. Método ETAAS para la determinación de cadmio en orina después de la preconcentración en columna con MWCNTs

A una alícuota de orina, tratada como se indica en el apartado 3.2.2.4, se le ajustó el pH a 7.2 empleando la cantidad adecuada de NaOH o HCl. Se pasaron 8 mL de esta alícuota a través de la micocolumna con una bomba peristáltica a 0.76 mL min^{-1} y los iones de Cd retenidos, se eluyeron empleando 1.5 mL de HNO_3 0.5 M (con una velocidad de flujo de 0.83 mL min^{-1}). 20 μL de la disolución eluida se analizaron por ETAAS en las condiciones optimizadas indicadas en la Tabla 14, recubriendo la superficie interior de la plataforma de L'vov con W, usado como modificador permanente [28].

Tabla 14. Programa de calentamiento del horno para la determinación de Cd por ETAAS.

Etapas	Temperatura (°C)		Rampa (s)	Permanencia (s)
	Orina	Eluyente	Orina/eluyente	Orina/eluyente
Secado	100	100	10	10
Mineralización	500	400	10	10
Atomización	1200	1100	4	4
Limpieza	2400	2400	2	1
Enfriamiento	40	40	20	15

3.2.3. Resultados y discusión

3.2.3.1. Pretratamiento de los MWCNTs y preparación de la microcolumna

La capacidad de adsorción de los iones metálicos por los CNTs sin tratar es muy baja, pero ésta se incrementa de forma considerable después de su oxidación con diferentes agentes oxidantes. Este hecho se puede explicar porque, con la oxidación, los extremos de los CNTs se abren y en las zonas en que hay defectos como pentágonos y heptágonos se producen fracturas. Debido a esto, el proceso de oxidación mejora su dispersión y aumenta los grupos funcionales que contienen oxígeno como $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ o $-\text{C=O}$ en la superficie de los CNTs. Estos grupos funcionales causan un aumento de la carga negativa en la superficie del carbón y los átomos de oxígeno, en los grupos funcionales, donan pares de electrones no compartidos a los iones metálicos, aumentando consecuentemente la capacidad de intercambio catiónico [29]. Diferentes tipos de energías y diferentes agentes oxidantes (como HNO_3 [12-17,19-27, 30,31], H_2SO_4 [15], $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ [15,32], y $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KMnO}_4$ [15,27]) han sido propuestos en la bibliografía para pretratar los MWCNTs. También se observó que no existe correlación directa entre la capacidad de adsorción de los iones metálicos y el área superficial específica, el volumen específico de los poros y su diámetro medio. Sin embargo, se ha demostrado que la capacidad de adsorción depende fuertemente de la acidez total superficial [16].

En el presente trabajo, de acuerdo con nuestras experiencias previas y siguiendo la bibliografía [27], se oxidaron 0.5 g de MWCNTs usando una mezcla de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KMnO}_4$ (10 mL H_2SO_4 1 M y 0.5 g KMnO_4) y empleando energía de microondas (400 W) durante 15 minutos. La acidez superficial total de los MWCNTs, obtenida por este procedimiento, se

determinó cuantitativamente usando el método de valoración de Boehm [33]. Se obtuvo una acidez superficial adecuada (3.02 mmol g^{-1}) comparada con la de otros métodos ($2.52\text{-}4.04 \text{ mmol g}^{-1}$). Se debe tener en cuenta que el uso de un tratamiento de oxidación más agresivo produciría una actividad superficial más elevada, pero también causa la rotura de los CNTs y los trozos resultantes de nanotubos de carbono podrían producir la obstrucción y/o una sobrepresión en el sistema FIA. En el presente caso, realizando el tratamiento asistido con microondas y usando $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KMnO}_4$ se evitaron los problemas mencionados.

La columna de preconcentración se preparó con un tubo de PTFE de 40 mm de longitud y un diámetro interno de 4 mm. Esta columna se empaquetó con 45 mg de los MWCNTs tratados y se taponó, en los dos extremos, con una pequeña porción de lana de vidrio para evitar la pérdida de adsorbente durante las etapas de preconcentración/elución. Antes de su uso se pasó a través de la columna una disolución de HNO_3 1 M seguido de agua Milli-Q para su limpieza y acondicionado.

3.2.3.2. Optimización de la etapa de extracción/preconcentración

3.2.3.2.1. Efecto del pH

Después de la oxidación de los nanotubos de carbono se forman algunos grupos activos, como $-\text{COOH}$ y $-\text{OH}$, en la superficie de los MWCNTs. Por lo tanto, está claro que el pH de la disolución que pasa por la columna afecta a la estructura del adsorbente y al grado de ionización y especiación de los analitos, y que la capacidad de adsorción de los iones metálicos en los MWCNTs es altamente dependiente del pH [26]. La carga superficial depende del pH del electrolito que lo rodea y existe un valor de pH denominado “punto de carga cero” (PZC) al cual la superficie tiene una carga neta cero [22]. Cuando el pH de la disolución es mayor que el PZC, la carga negativa de los grupos activos de la superficie favorece interacciones electrostáticas para la adsorción de las especies catiónicas. Por ello, para trabajar a valores de pH mayores que el PZC y para evaluar el efecto del pH en la adsorción de los iones de cadmio en los nanotubos de carbono, se realizó un estudio de la recuperación del Cd a diferentes valores de pH de acuerdo con Stafiej and Pyrzynska [29]. Una serie de disoluciones de muestra, conteniendo la misma concentración de Cd (1 g L^{-1}), se ajustaron a diferentes valores de pH en el rango 3.0-9.0 empleando las cantidades adecuadas

de disoluciones de NaOH (0.1-0.01 M) y/o HCl (0.1-0.01 M). Las disoluciones resultantes se procesaron de acuerdo con el procedimiento de preconcentración recomendado y se calculó el porcentaje de adsorción empleando la diferencia entre las cantidades de cadmio en la disolución inicial y en la disolución eluida de la columna.

El efecto del pH en la adsorción del cadmio se presenta en la Figura 55 y en ella se puede observar que el Cd es muy poco adsorbido a $\text{pH} < 4$. Se comprueba que se obtiene una recuperación cuantitativa (mayor del 90 %) en el rango de pH comprendido entre 6.0 y 8.0, y que los valores de pH alrededor de 8.0 o mayores muestran una baja recuperación del Cd. Por tanto, se eligió para las futuras extracciones un valor de 7.2 como pH óptimo.

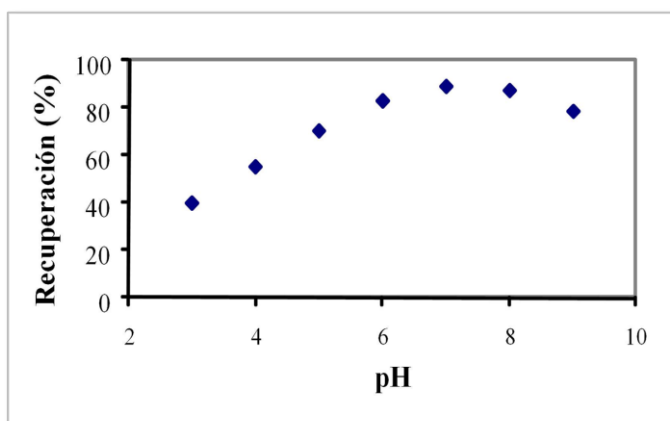


Figura 55. Efecto del pH en la recuperación del Cd de los MWCNTs (n=3): $[\text{Cd}]$: $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Las muestras de orina no fueron tamponadas debido a que se comprobó que la etapa de extracción es la única en la que es necesario un control del pH. Además, al no emplear disoluciones tampón se evita la introducción de más sales en la compleja matriz de la orina. En todos los casos, el pH se ajustó al óptimo de 7.2 inmediatamente antes de la introducción de la muestra de orina en la columna.

3.2.3.2.2. Influencia de la velocidad de flujo de muestra

La retención del cadmio en los MWCNTs y la duración del análisis dependen de la velocidad de flujo de la muestra a través de la columna. Este efecto se estudió haciendo pasar 8 mL de muestra a través de la columna, con una bomba peristáltica a velocidades de flujo comprendidas entre 0.5 y 1.5 mL min^{-1} . La recuperación óptima de cadmio (mayor del 90 %) se obtuvo a valores de flujo de 0.76 mL min^{-1} . Velocidades de flujo mayores producían una importante disminución en la adsorción, debido a la disminución de la cinética de adsorción y por lo tanto, se eligió 0.76 mL min^{-1} como velocidad de flujo óptima para realizar una extracción cuantitativa de cadmio.

3.2.3.2.3. Efecto de los parámetros de elución

Diferentes disoluciones de ácidos minerales (tales como HNO_3 , HCl o H_2SO_4) se pueden emplear para eluir los iones metálicos de la columna de preconcentración. En el presente trabajo se seleccionó directamente el ácido nítrico por estar demostrado que es el eluyente más adecuado y porque produce una señal de fondo muy baja en el posterior análisis por ETAAS [34]

Para una elución completa del Cd de la columna, la concentración del eluyente (HNO_3), su velocidad de flujo y el volumen requerido deben ser optimizados; para ello se empleó un diseño compositivo central 2^3 + estrella, en 17 análisis aleatorios. Se aplicó un test estadístico para evaluar la influencia de los parámetros considerados comparando el error cuadrático medio frente a una estimación del error experimental. De los resultados obtenidos se puede concluir que el volumen ($P = 0.0009$), la concentración del eluyente ($P = 0.009$) y su interacción ($P = 0.005$) presentaron P-valores inferiores a 0.05, indicando que tienen una influencia significativa en la señal analítica para un nivel de confianza del 95 %. Teniendo en cuenta las superficies de respuesta obtenidas del diseño compositivo central descrito previamente, los valores óptimos establecidos para los parámetros estudiados fueron los siguientes: la concentración del eluyente (investigada en el rango entre 0.0 y 1.5 mol L^{-1}) fue 0.5 mol L^{-1} ; para el volumen del eluyente se encontró que los volúmenes más grandes produjeron mejores porcentajes de recuperación y 1.5 mL fue el volumen elegido para futuras eluciones porque con él se alcanzó el 100 % de la recuperación. El caudal del eluyente también fue estudiado en el rango de 0.1 a 1.5 mL min^{-1} y 0.83 mL min^{-1} fue seleccionado como óptimo. Como se puede ver en la Figura 56, se obtienen buenas recuperaciones (~ 100 %) usando 1.5 mL de eluyente con un caudal de 0.83 mL min^{-1} .

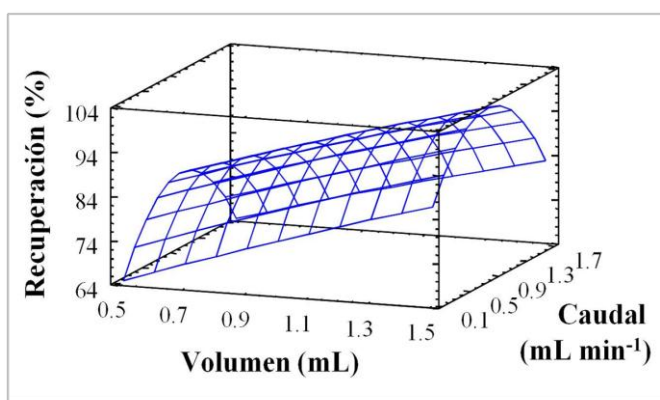


Figura 56. Superficie de respuesta obtenida al estudiar el efecto del caudal y el volumen de eluyente en la recuperación del Cd.

3.2.3.2.4. Efecto de los factores de la orina (porcentaje de orina, volumen de la disolución de muestra) y masa de adsorbente

La preconcentración y el análisis de muestras de orina empleando una columna con MWCNTs se demostró más complejo que cuando se trabaja con muestras de agua. Con el fin de prevenir el bloqueo de la columna o la sobrepresión en el sistema FIA, se consideró el filtrado de la orina, pero aparecieron problemas de recuperación. Cuando las muestras se diluyeron se obtuvieron mejores resultados y además se utilizó una precolumna con fibra de vidrio para retener las partículas sólidas de la muestra. Teniendo en cuenta que el cadmio en muestras de orina está presente en concentraciones muy bajas, y con el objetivo de mejorar la sensibilidad del procedimiento, se estudió el porcentaje de orina pura en la disolución de muestra. También, se evaluó el volumen de la disolución de muestra a pasar a través de la columna para obtener un mejor rendimiento. Por otro lado, el aumento del volumen y el porcentaje de orina están directamente relacionados con la cantidad de MWCNTs empaquetados en la columna, mayor porcentaje y volumen de orina contienen una mayor cantidad de iones que necesitan una mayor masa de adsorbente para ser retenidos.

Los tres factores citados se evaluaron conjuntamente en los siguientes rangos: la masa de adsorbente fue investigada desde 5 a 45 mg de CNTs, el porcentaje de orina en la muestra en el intervalo de 15-50 % (v/v) y el volumen de muestra de 2 a 10 mL. Es evidente que un volumen de muestra relativamente grande mejora la sensibilidad, pero el tiempo de paso de la muestra a través de la columna aumenta proporcionalmente. Por lo tanto, después de diversas experiencias con diferentes volúmenes, se seleccionaron 8 mL de disolución de muestra como un óptimo intermedio, este volumen proporciona suficiente Cd para una adecuada sensibilidad y puede pasar a través de la columna en un tiempo adecuado (son necesarios 10.5 min para pasar 8 mL de muestra al caudal establecido de 0.76 mL min^{-1}). Aunque la velocidad de flujo podría influir en el tiempo de contacto entre la muestra y el adsorbente, en este caso, el equilibrio se alcanzó más rápidamente porque las concentraciones estudiadas eran bajas (el adsorbente atrapa los iones de metales disponibles más rápidamente a concentraciones más bajas [15]).

La masa de adsorbente a emplear en la columna fue estudiada para un volumen de 8 mL de muestra y para porcentajes de orina pura en la disolución de muestra superiores al 20 %. En estas condiciones el uso de 15-20 mg de adsorbente produjo muy bajas recuperaciones de Cd, indicando que gran parte del cadmio presente no era retenido

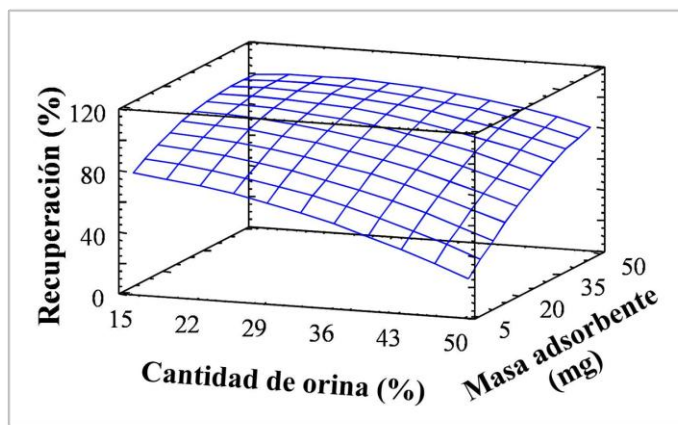


Figura 57. Superficie de respuesta obtenida al estudiar el efecto de la masa de adsorbente y el porcentaje de orina en la recuperación del Cd.

(Figura 57). Considerando que la interacción química entre los iones metálicos y los grupos funcionales de la superficie de los CNTs es el mecanismo principal para la adsorción de iones, se evaluó una mayor masa de adsorbente y para 45 mg de adsorbente y un 30 % (v/v) de orina en la muestra se logró una recuperación óptima. Si se emplean masas de adsorbente y porcentajes más grandes se obtienen recuperaciones peores, pues cuanto mayor es la masa de adsorbente empleado más volumen de eluyente se necesitará para completar la elución de los iones metálicos. Por lo tanto, los valores óptimos establecidos para futuras extracciones fueron 8 mL de muestra, 45 mg de adsorbente y un 30 % (v/v) de la orina en la disolución.

3.3.3.2.5. Reutilización de la columna

Se estudió la estabilidad a lo largo del tiempo de los MWCNTs empleados en la columna como adsorbente pasando sucesivamente por la columna muestras de 8 mL de orina preparadas tal y como se indica en el punto 3.2.2.4. La estabilidad y la potencial regeneración del relleno se evaluó mediante la medición de las recuperaciones del analito en el eluyente y controlando los problemas de sobrepresión que pudiesen aparecer. Después de cada etapa, tras pasar y eluir cada muestra, la columna se regeneró con 2 mL de HNO_3 1 M y el volumen adecuado de agua Milli-Q hasta obtener pH neutro. La columna así regenerada permitió más de 100 ciclos de adsorción-desorción sin disminuir su capacidad de adsorción/recuperación y sin cambiar el modo de operación del sistema FIA.

3.2.3.3. Optimización de los programas de ETAAS

3.2.3.3.1. Optimización del programa ETAAS para cadmio en orina

En la determinación de cadmio por ETAAS la eliminación de los componentes orgánicos e inorgánicos de la matriz durante la fase de mineralización presenta dificultades, al ser el Cd un elemento volátil que puede perderse en el atomizador a temperaturas superiores a 200 °C, si no se emplean los modificadores químicos adecuados [35]. Teniendo en cuenta otros trabajos publicados acerca del uso de diferentes modificadores químicos [36-39] y nuestros estudios previos [28], en este trabajo se ha elegido como procedimiento más adecuado para la determinación de Cd un método ETAAS usando W como modificador químico permanente.

Se estudió el efecto de las temperaturas de mineralización y atomización en la absorbancia integrada del cadmio en muestras de orina en el rango de 200-1000 °C y 800-2000 °C, respectivamente. Y como puede observarse en la Figura 58, para este tipo de muestras, la absorbancia disminuyó para temperaturas de mineralización por encima de 500 °C. También se estudiaron los efectos de la temperatura de atomización en la absorbancia integrada para el Cd en las muestras de orina en el mismo diseño y se comprobó que la señal disminuía gradualmente para temperaturas de atomización superiores a 1200 °C (Figura 58). Teniendo en cuenta la superficie de respuesta obtenida, se eligieron como óptimas una temperatura de mineralización de 500 °C y una temperatura de atomización de 1200 °C. También se estudiaron el resto de las condiciones de la cámara tales como los tiempos de rampa y de permanencia a partir de los valores obtenidos en estudios anteriores [28], sin embargo, debido a que no presentaron una influencia significativa en la señal analítica, no fueron modificados. En la Tabla 14 se presentan las condiciones óptimas de operación establecidas para la cámara de grafito. Teniendo en cuenta que varios autores indicaron que el efecto de la matriz puede ser

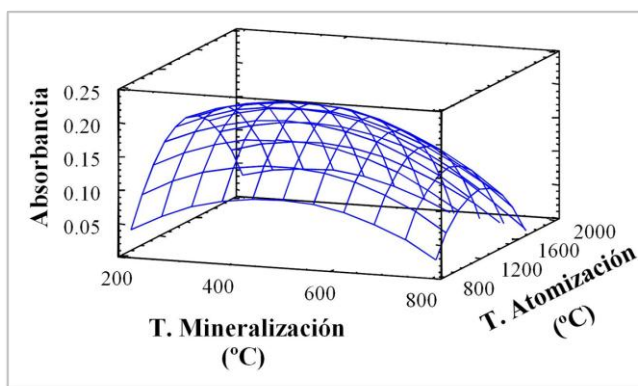


Figura 58. Superficie de respuesta para el efecto de las temperaturas de mineralización y atomización en la absorbancia del Cd.

corregido al añadir a la muestra una disolución de HNO_3 para ayudar en el proceso de mineralización [28,40,41], en el presente trabajo, se estudió la adición de ácido nítrico para la determinación de Cd en las muestras de orina. Se ensayaron diferentes concentraciones de HNO_3 y se observó que la simple adición de 100 μL de HNO_3 0.5 M contribuye eficazmente a la eliminación completa de los efectos de matriz.

3.2.3.3.2. Optimización del programa ETAAS para el eluyente

Una estrategia de optimización similar a la del caso anterior se utilizó para el programa ETAAS a emplear en el análisis del eluyente procedente de la columna de preconcentración y se obtuvieron resultados similares a los anteriores. Los únicos factores significativos que influyeron en la señal analítica fueron las temperaturas de atomización y de mineralización. Por lo tanto, se investigaron los efectos de estas temperaturas en la determinación de cadmio en las disoluciones eluidas. Se observó que se producía una pérdida significativa de analito para temperaturas de mineralización superiores a 400 °C, produciendo una reducción de la señal de absorbancia, por lo que se seleccionó 400 °C como mejor temperatura de mineralización. La temperatura de atomización óptima fue 1100 °C, produciendo la mayor señal analítica y también picos bien formados. El resto de las condiciones de la cámara, tales como los tiempos de rampa y de permanencia establecidos como óptimos fueron los mismos que en el caso del programa ETAAS para orina, ya descritos en la Sección 3.2.3.3.1. Las condiciones empleadas se presentan en la Tabla 14.

3.2.3.3.3. Evaluación de interferencias

Para estudiar las interferencias se realizaron una serie de experimentos bajo las condiciones optimizadas descritas en la Sección 3.2.2.5.2 empleando una disolución de orina que contenía 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. Las interferencias, fueron evaluadas individualmente, y se consideraron positivas si los iones extraños causaban un cambio en la recuperación del analito superior al $\pm 5\%$. Se estudiaron los iones de los metales alcalinos más representativos: K(I), Na(I); iones de metales alcalinotérreos: Mg(II), Ca(II); y los iones de metales de transición tales como Fe(III), Zn(II), Cr(III), Ni(II), Co(II), Cu(II) y Pb(II) en concentraciones entre 10^3 y 10^4 veces la concentración de Cd (niveles de mg L^{-1}). Los resultados se muestran en la Tabla 15, donde se observa que todos los iones estudiados fueron tolerados en

concentraciones considerablemente superiores a los niveles presentes en la orina. Por lo tanto el método desarrollado permitirá la determinación de cadmio, libre de interferencias, en muestras de orina.

Tabla 15. Efecto de la presencia de algunos iones extraños en el método desarrollado para la determinación de Cd.

Ion extraño	Concentración del ion extraño (mg L ⁻¹)	Recuperación (%) ^a	Ion extraño	Concentración del ion extraño (mg L ⁻¹)	Recuperación (%) ^a
K	10	101.2	Ni	5	99.8
Na	10	99.9	Cr	1	99.5
Mg	10	101.5	Co	1	98.6
Ca	10	98.9	Cu	1	99.2
Fe	5	98.2	Pb	1	98.6
Zn	5	98.5			

^a Recuperación de una muestra de orina que contiene 1 µg L⁻¹ de Cd.

3.2.3.4. Características analíticas del método

Bajo las condiciones optimizadas, descritas en la Sección 3.2.3.3, el método propuesto proporcionó un intervalo lineal de calibración desde el LOD (10 ng L⁻¹) hasta 3.0 µg L⁻¹, con un coeficiente de correlación superior a 0.999. La recta de calibrado obtenida por el procedimiento de preconcentración en flujo acoplado a ETAAS fue: $Abs = (0.415 \pm 0.004) [Cd (\mu g L^{-1})] + (0.166 \pm 0.024)$. Mediante el cálculo del factor de preconcentración (PF) se ha comprobado la mejora de la sensibilidad de la técnica ETAAS al intercalar la etapa de preconcentración con MWCNTs. Este parámetro se calculó como el cociente entre las pendientes de las curvas analíticas con y sin etapa de preconcentración. La curva de calibración obtenida, sin la fase de concentración, fue: $Abs = (0.122 \pm 0.006) [Cd (\mu g L^{-1})] + (0.004 \pm 0.003)$. Por lo tanto, utilizando la etapa de preconcentración desarrollada en este trabajo, se alcanzó un aumento en la sensibilidad de 3.4 [19].

Además, hay que tener en cuenta que en la mayoría de los métodos de determinación de Cd en muestras de orina por ETAAS es necesario el empleo de curvas de adición para evitar las interferencias de matriz. Sin embargo, en el método propuesto, las muestras preconcentradas se pueden leer directamente en la curva de calibración al no haberse detectado diferencias significativas entre las pendientes de las curvas de calibrado y adición.

El efecto matriz ha sido eliminado como consecuencia del proceso de preconcentración. Este hecho puede comprobarse en la Figura 59, mediante la observación de los perfiles de los picos de cadmio y del fondo para una muestra de orina y la misma muestra preconcentrada. En ella se puede observar un pico alto y sin fondo para la muestra preconcentrada, mientras que para la muestra de orina el pico obtenido fue menor y presenta un fondo significativo.

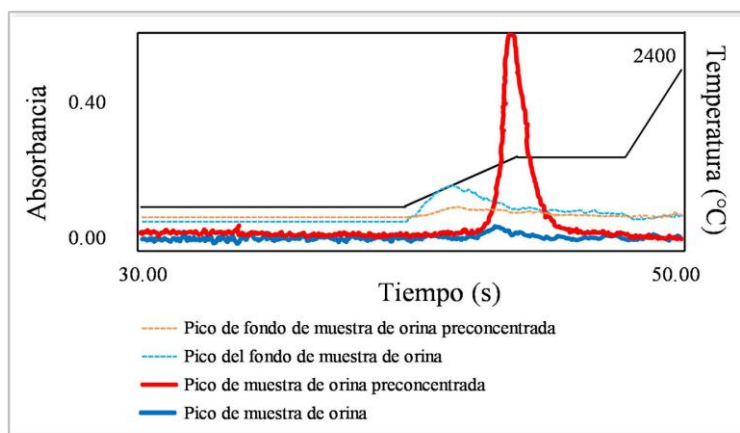


Figura 59. Picos de cadmio y de fondo para muestra de orina y muestra de orina preconcentrada.

Los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) se calcularon según la definición de la IUPAC [42], $LOD = 3SD/m$, donde m es la pendiente de la curva de calibrado y SD es la desviación estándar de 10 medidas consecutivas de disoluciones de blancos; LOQ se determina como $10SD/m$. En este trabajo los límites de detección (10 ng L^{-1}) y cuantificación (36 ng L^{-1}) alcanzados permiten la adecuada medida del Cd en los niveles en que se encuentra presente en la orina humana. El valor del LOD es comparable con los obtenidos por otros autores como Vasil'eva y colaboradores [9] (10 ng L^{-1}) y Aranda y colaboradores [43] (8 ng L^{-1}) para la determinación de Cd en orina por ETAAS después de la extracción de orina digerida en microondas. En la bibliografía pueden encontrarse otros métodos con mejores límites de detección (2.0 ng L^{-1} [44], 2.9 ng L^{-1} [45] y 5.0 ng L^{-1} [46]), pero en todos estos casos el método propuesto requiere una combinación de dos pasos: una etapa de preconcentración después de un procedimiento de digestión previo.

La precisión del método, evaluada como desviación estándar relativa (RSD) de diez ciclos de preconcentración independientes añadiendo 0.0 , 0.25 , 0.50 , 1.00 y $1.50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, fue de 9.8 , 8.8 , 5.7 , 3.4 y 7.9% , respectivamente.

Se estudió la reproducibilidad en la preparación de la columna con el fin de evaluar su influencia en los resultados. Para ello se prepararon diez columnas con las mismas dimensiones (40 mm de longitud y 4 mm de d.i.) empaquetadas con 45 mg de MWCNTs

pretratados según el procedimiento indicado en la Sección 3.2.3.1. Los resultados obtenidos para la concentración de Cd para la misma muestra utilizando las diez columnas preparadas se compararon mediante un test Anova. Puesto que el valor de P (0.37) fue superior a 0.05, el factor evaluado no tiene un efecto estadísticamente significativo en la señal analítica (para un nivel de confianza del 95%). Por lo tanto, la reproducibilidad de los resultados obtenidos con diferentes columnas preparadas de la misma manera resultó ser adecuada.

La exactitud del método propuesto se evaluó mediante un estudio de recuperación analítica. Diferentes muestras de orina fueron adicionadas con diferentes cantidades de Cd en el rango de 0.25–1.50 $\mu\text{g L}^{-1}$ y se midieron en las condiciones descritas en la Sección 3.2.2.5. Como puede verse en la Tabla 16, se obtuvieron resultados adecuados en el rango entre 97–100 %.

Tabla 16. Exactitud del método propuesto.

Cd añadido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Recuperación de Cd (%)
0.25	0.25 \pm 0.02	8.8	97.4
0.50	0.50 \pm 0.03	5.7	99.1
1.00	1.00 \pm 0.03	3.4	99.0
1.50	1.50 \pm 0.12	7.9	100.0

El ciclo completo de preconcentración/elución/regeneración para una muestra requiere un tiempo de 10.5 min, por lo que se podrían procesar 5.7 muestras por hora. Sin embargo, existe la posibilidad de mejorar el tiempo de operación utilizando simultáneamente varias columnas para preconcentrar varias muestras mediante un sistema FIA multicanal.

Las características analíticas del método desarrollado son comparables a las presentadas para otros métodos de determinación de Cd en orina por ETAAS con diferentes procedimientos de separación y/o preconcentración incluyendo digestión por microondas y posterior extracción en el punto de nube [43], electrodeposición seguida por redisolución [47], extracción en línea con disolventes usando un separador de fase gravitacional [48], etc. Sin embargo, el método desarrollado en este trabajo es más simple y más automatizado que la mayoría de ellos ya que la eliminación de la matriz y la concentración de Cd se realizan en una sola etapa, evitando la combinación de dos pasos (digestión-separación, electrodeposición- redisolución, etc.).

3.2.3.5. Análisis de muestras reales

Para demostrar el uso potencial en casos reales, el método de preconcentración desarrollado en este trabajo se ha aplicado a la determinación del contenido del Cd en siete muestras de orina de personas sanas fumadoras y no fumadoras. Se demostró que el procedimiento de preconcentración propuesto alcanza suficiente sensibilidad ($LOQ = 0.036 \mu\text{g L}^{-1}$) para determinar el contenido de Cd en todas las muestras en la que las concentraciones obtenidas estuvieron entre 0.14 y $2.94 \mu\text{g L}^{-1}$. Para el grupo de no fumadores las concentraciones encontradas estuvieron en el rango de $0.14\text{--}1.60 \mu\text{g L}^{-1}$, niveles que pueden ser considerados como normales. Por el contrario, las concentraciones encontradas en la orina de los fumadores o de personas expuestas al humo del tabaco generalmente fueron más altas, oscilando entre 1.96 y $2.94 \mu\text{g L}^{-1}$. Es conveniente señalar que el método directo sin preconcentración previa ($LOQ = 0.49 \mu\text{g L}^{-1}$) sólo permitiría la determinación de Cd en la orina cuando se encuentre a niveles altos, es decir, para las personas expuestas o fumadores.

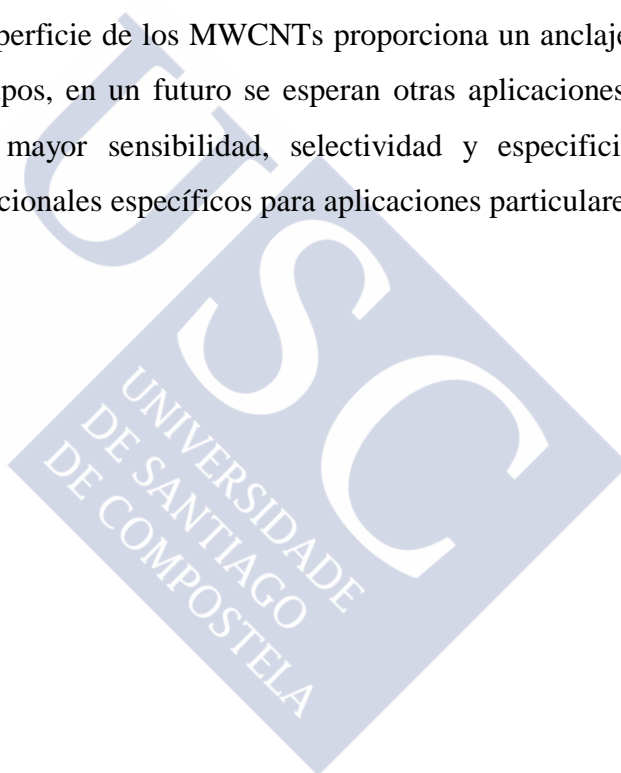
3.2.4. Conclusiones

En este trabajo de investigación, se ha desarrollado un sistema de preconcentración en microcolumna usando MWCNTs como material adsorbente para la determinación de Cd en orina por ETAAS y se ha demostrado su validez para casos reales. Los nanotubos de carbono multipared (MWCNTs) fueron tratados previamente con $\text{H}_2\text{SO}_4\text{--KMnO}_4$ usando la energía de un microondas para introducir grupos funcionales en su superficie, con el fin de mejorar la capacidad de adsorción de cationes. El Cd retenido en los MWCNTs puede ser fácilmente desorbido (sin contaminación en el análisis siguiente) y medido por ETAAS obteniéndose unas características analíticas adecuadas.

El nuevo método desarrollado presenta ventajas en comparación con otros métodos directos para la determinación de Cd en orina: (i) la etapa de preconcentración produjo un aumento en la detectabilidad de Cd con un factor de preconcentración de 3.4, permitiendo la posibilidad de determinar niveles bajos de Cd en la orina; (ii) la eliminación de la matriz permite la medición de Cd en las muestras de orina, evitando la necesidad de un procedimiento previo de digestión y (iii) la ausencia de efecto matriz permite la medición de muestras preconcentradas directamente en la curva de calibración evitando el uso del método

de las adiciones estándar. Además, el método desarrollado demostró ser útil para su aplicación a la determinación de los niveles de Cd en muestras de orina en personas sanas no expuestas. También ofrece beneficios por su simplicidad y capacidad de automatización, en comparación con otros métodos para la determinación de Cd por ETAAS en los que eran necesarias la combinación de dos etapas, un procedimiento de digestión previo seguido de una etapa de preconcentración.

Se ha demostrado el gran potencial de los nanotubos de carbono multipared como adsorbente en la preconcentración y eliminación del efecto de matriz para la determinación por ETAAS de elementos traza/ultratraza en muestras complejas. Puesto que la presencia de grupos carboxilo en la superficie de los MWCNTs proporciona un anclaje para la fijación de una gran variedad de grupos, en un futuro se esperan otras aplicaciones basándose en este enfoque, que presenten mayor sensibilidad, selectividad y especificidad, al desarrollar nanotubos con grupos funcionales específicos para aplicaciones particulares.



3.2.5. Referencias

- [1] J.M. Jarrett, G. Xiao, K.L. Caldwell, D. Henahan, G. Shakirova, R.L. Jones. Eliminating molybdenum oxide interference in urine cadmium biomonitoring using ICP-DRC-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (2008) 962–967.
- [2] V. Verougstraete, D. Lison, P. Hotz. Cadmium, lung and prostate cancer: a systematic review of recent epidemiological data. *Journal of Toxicology and Environmental Health B* 6 (2003) 227–256.
- [3] C.J. Everett, I.L. Frithsen. Association of urinary cadmium and myocardial infarction. *Environmental Research* 106 (2008) 284–286.
- [4] K.E. Pharr, B.T. Jones. Extraction of cadmium from urine: a brief review. *Applied Spectroscopy Reviews* 42 (2007) 563–572.
- [5] G.L. Donati, K.E. Pharr Jr., C.P. Calloway, J.A. Nobrega, B.T. Jones. Determination of Cd in urine by cloud point extraction–tungsten coil atomic absorption spectrometry. *Talanta* 76 (2008) 1252–1255.
- [6] K. Pyrzynska, K. Kilian. On-line sorption-based systems for determination of cadmium with atomic spectrometry detectors. *Water Research* 41 (2007) 2839–2851.
- [7] C. Davis, P. Wu, X. Zhang, X. Hou, B.T. Jones. Determination of cadmium in biological Samples. *Applied Spectroscopy Reviews* 41 (2006) 35–75.
- [8] Y. Suzuki, Y. Endo, M. Ogawa, M. Matsuda, Y. Nakajima, N. Onda, M. Iwasaki, S. Tsugane. Determination of sub-ppb cadmium in urine by solid-phase extraction and inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytical Sciences* 24 (2008) 1049–1052.
- [9] L.A. Vasil'eva, I.L. Grinshtein, S. Gucer, B. Izgi. Determination of lead and cadmium in urine by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry* 63 (2008) 649–654.
- [10] Z. Fang. *Flow Injection Separation and Preconcentration*. VCH, Weinheim, 1993.
- [11] R. Gil, S.N. Goyanes, G. Polla, P. Smichowski, R.A. Olsina, L.D. Martinez. Application of multi-walled carbon nanotubes as substrate for the on-line preconcentration, speciation and determination of vanadium by ETAAS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 22 (2007) 1290–1295.
- [12] C. Chen, X. Wang. Adsorption of Ni(II) from aqueous solution using oxidized multiwall carbon nanotubes. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 45 (2006) 9144–9149.
- [13] J. Hu, C. Chen, X. Zhu, X. Wang. Removal of chromium from aqueous solution by using oxidized multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials* 162 (2009) 1542–1550.
- [14] H.H. Cho, K. Wepasnick, B.A. Smith, F.K. Bangash, D.H. Fairbrother, W.P. Ball. Sorption of aqueous Zn(II) and Cd(II) by multiwall carbon nanotubes: the relative roles of oxygen-containing functional groups and graphenic carbon. *Langmuir* 26 (2010) 967–981.
- [15] J.H. Li, J. Ding, Z. Luan, Z. Di, Y. Zhu, C. Xu, D. Wu, B. Wei. Competitive adsorption of Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} from aqueous solution by multi-walled carbon nanotubes. *Carbon* 41 (2003) 2782–2792.
- [16] G. Rao, C. Lu, F. Su. Sorption of divalent metal ions from aqueous solution by carbon nanotubes: A review. *Separation and Purification Technology* 58 (2007) 224–231.

- [17] P. Liang, E. Zhao, Q. Ding, D. Du. Multiwalled carbon nanotubes microcolumn preconcentration and determination of gold in geological and water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta B* 63 (2008) 714–717.
- [18] A. Duran, M. Tuzen, M. Soylak. Preconcentration of some trace elements via using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent. *Journal of Hazardous Materials* 169 (2009) 466–471.
- [19] C.R.T. Tarley, A.F. Barbosa, M.G. Segatelli, E.C. Figueiredo, P.O. Luccas. Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L^{-1} levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 21 (2006) 1305–1313.
- [20] D.H. Liang, D.M. Han. Multi-walled carbon nanotubes as sorbent for flow injection on-line microcolumn preconcentration coupled with flame atomic absorption spectrometry for determination of cadmium and copper. *Analytical Letters* 39 (2006) 2285–2295.
- [21] A.H. El-Sheikh, J.A. Sweileh, Y.S. Al-Degs. Effect of dimensions of multi-walled carbon nanotubes on its enrichment efficiency of metal ions from environmental waters. *Analytica Chimica Acta* 604 (2007) 119–126.
- [22] M. Tuzen, K.O. Saygi, M. Soylak. Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 632–639.
- [23] S. Chen, C. Liu, M. Yang, D. Lu, L. Zhu, Z. Wang. Solid-phase extraction of Cu, Co and Pb on oxidized single-walled carbon nanotubes and their determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 170 (2009) 247–251.
- [24] S. Chen, M. Xiao, D. Lu, Z. Wang. The use of carbon nanofibers microcolumn preconcentration for inductively coupled plasma mass spectrometry determination of Mn, Co and Ni. *Spectrochimica Acta B* 62 (2007) 1216–1221.
- [25] S.Z. Mohammadi, D. Afzali, D. Pourtalebi. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of lead, cadmium and nickel in different matrixes after solid phase extraction on modified multiwalled carbon nanotubes. *Central European Journal of Chemistry* 8 (2010) 662–668.
- [26] S. Chen, C. Liu, M. Yang, D. Lu, L. Zhu, Z. Wang. Solid-phase extraction of Cu, Co and Pb on oxidized single-walled carbon nanotubes and their determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 170 (2009) 247–251.
- [27] C.Y. Kuo, H.Y. Lin. Adsorption of aqueous cadmium (II) onto modified multi-walled carbon nanotubes following microwave/chemical treatment. *Desalination* 249 (2009) 792–796.
- [28] M. Vilar, J. Barciela, S. Garcia, R. Peña, C. Herrero. Direct determination of cadmium in Orujo spirit samples by electrothermal atomic absorption spectrometry: comparative study of different chemical modifiers. *Analytica Chimica Acta* 591 (2007) 231–238.
- [29] A. Stafiej, K. Pyrzynska. Adsorption of heavy metal ions with carbon nanotubes. *Separation and Purification Technology* 58 (2007) 49–52.
- [30] A.H. El-Sheikh. Effect of oxidation of activated carbon on its enrichment efficiency of metal ions: Comparison with oxidized and non-oxidized multi-walled carbon nanotubes. *Talanta* 75 (2008) 127–134.
- [31] Y. Wang, Z. Iqbal, S. Mitra. Microwave-induced rapid chemical functionalization of single-walled carbon nanotubes. *Carbon* 43 (2005) 1015–1020.

- [32] C.H. Lau, R. Cervini, S.R. Clarke, M.G. Markovic, J.G. Matison, S.C. Hawkins, C.P. Huynh, G.P. Simon. The effect of functionalization on structure and electrical conductivity of multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoparticle Research* 10 (2008) 77–88.
- [33] S.L. Goertzen, K.D. Theriault, A.M. Oickle, A.C. Tarasuk. Standardization of the Boehm titration. Part I. CO₂ expulsion and endpoint determination. *Carbon* 48 (2010) 1252–1261.
- [34] E. Hosten, B. Welz. Evaluation of an immobilised macrocyclic material for on-line column preconcentration and separation of cadmium, copper and lead for electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 392 (1999) 55–65.
- [35] J.B. Borba da Silva, D.L.G. Borges, M.A.M. Silva da Veiga, A.J. Curtius, B. Welz. Determination of Cd in biological samples solubilized with in tetramethylammonium hydroxide by ET-AAS using Ru as permanent modifier. *Talanta* 60 (2003) 977–982.
- [36] M.H. Canuto, H.G.L. Sieblad, M.B. Franco, J.B. Borba Silva. Determination of Al, Cd, and Pb in brazilian sugar cane spirit, cachaca, by ETAAS using matrix-matched calibration. *Atomic Spectroscopy* 25 (2004) 140–144.
- [37] J.C. Rodriguez, J. Barciela, C. Herrero, M. Freire, S. Garcia, R.M. Peña. Comparison of palladium–magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for cadmium determination in honey samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* 61 (2003) 509–517.
- [38] E.C. Lima, F. Barbosa, F.J. Krug. The use of tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in decomposed samples of biological materials and sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 409 (2000) 267–274.
- [39] O. Acar. Molybdenum, Mo-Ir and Mo-Ru coatings as permanent chemical modifiers for the determination of cadmium and lead in sediments and soil samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 542 (2005) 280–286.
- [40] M. Aceto, O. Abollino, M.C. Bruzzoniti, E. Mentasti, C. Sarzanini, M. Malandrino. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. *Food Additives and Contaminants* 19 (2002) 126–133.
- [41] J.M. Jurado, M.J. Martin, F. Pablos, A. Moreda-Piñeiro, P. Bermejo-Barrera. Direct determination of copper, lead and cadmium in aniseed spirits by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 101 (2007) 1296–1304.
- [42] L.A. Currie. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities. *Pure and Applied Chemistry* 67 (1995) 1699–1723.
- [43] P.R. Aranda, R.A. Gil, S. Moyano, I. De Vito, L.D. Martinez. Cloud point extraction for ultra-trace Cd determination in microwave-digested biological samples by ETAAS. *Talanta* 77 (2008) 663–666.
- [44] Y. Sung, S. Huang. On-line preconcentration system coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of bismuth, cadmium, and lead in urine. *Analytica Chimica Acta* 495 (2003) 165–176.
- [45] J. Wang, E.H. Hansen. Coupling sequential injection on-line preconcentration using a PTFE beads packed column to direct injection nebulization inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 17 (2002) 1278–1283.
- [46] M. Miro, S. Jónczyk, J. Wang, E.H. Hansen. Exploiting the bead-injection approach in the integrated sequential injection lab-on-valve format using hydrophobic packing materials for on-line removal and preconcentration of trace levels of cadmium in environmental and biological samples via formation of non-charged chelates prior to ETAAS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 89–98.

- [47] Z. Cansky, P. Rychlovsky, Z. Petrova, J.P. Matousek. A technique coupling the analyte electrodeposition followed by in-situ stripping with electrothermal atomic absorption spectrometry for analysis of samples with high NaCl contents. *Spectrochimica Acta B* 62 (2007) 250–257.
- [48] A.N. Anthemidis, G.A. Zachariadis, J.A. Stratis. Development of an on-line solvent extraction system for electrothermal atomic absorption spectrometry utilizing a new gravitational phase separator. Determination of cadmium in natural waters and urine samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 1400–1403.

3.2.6. Publicación

A continuación se incluye la publicación correspondiente a este capítulo:

A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine. Jennifer Álvarez Méndez, Julia Barciela García, Rosa M. Peña Crecente, Sagrario García Martín, Carlos Herrero Latorre.

Publicado en la revista: **Talanta** 85 (2011) 2361–2367.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.092>

3.3. NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE COMO MATERIAL ADSORBENTE PARA LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE PLOMO EN ORINA Y SU POSTERIOR DETERMINACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA

Rosa M. Peña Crecente, Carlha Gutiérrez Lovera, Julia Barciela García,
Jennifer Álvarez Méndez, Sagrario García Martín, Carlos Herrero Latorre

SPECTROCHIMICA ACTA PART B 101 (2014) 15–20

RESUMEN

La determinación de plomo en orina es una forma de controlar la exposición química a este metal. En el presente trabajo, se desarrolla un nuevo método para su determinación a bajos niveles por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). El plomo se separó de la matriz de orina por medio de un procedimiento de extracción en fase sólida (SPE), utilizando como material adsorbente nanotubos de carbono de pared múltiple oxidados. La retención del plomo presente en la orina se realizó a pH 4.0 y fue cuantitativamente eluido usando una disolución de ácido nítrico 0.7 M, para ser medido posteriormente por ETAAS. Los efectos de los parámetros que influyen en el proceso de adsorción-elución (tales como pH, volumen y concentración del eluyente, velocidades de flujo de muestra y eluyente) y las condiciones de la espectrometría atómica se estudiaron por medio de diferentes estrategias de diseño factorial. Bajo las condiciones optimizadas, los límites de detección y cuantificación obtenidos fueron de 0.08 y 0.26 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb, respectivamente. Los resultados obtenidos demostraron la ausencia del efecto matriz de la orina como consecuencia del proceso SPE llevado a cabo. Por lo tanto, el método desarrollado es útil para el análisis de Pb a niveles bajos en muestras reales sin la influencia de otros componentes presentes en la orina. El método propuesto se aplicó a la determinación de plomo en muestras de orina de personas sanas no expuestas y los resultados obtenidos fueron adecuados (en el rango de 3.64 a 22.9 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb).

3.3.1. Introducción

El plomo es un metal pesado tóxico que no tiene ninguna función fisiológica positiva conocida en el cuerpo humano. La exposición al plomo causa diferentes enfermedades y provoca consecuencias indeseables para la salud. En la revisión de Needleman [1] se presenta un estudio completo de los efectos adversos que tiene este metal sobre el organismo humano. Las principales fuentes de exposición al plomo incluyen el tabaquismo, el aire contaminado (principalmente de tetraetil plomo usado como aditivo para combustibles de motor), el agua, el suelo, los alimentos y los productos de consumo [2]. La exposición ocupacional en el lugar de trabajo es la causa más común de intoxicación por plomo en adultos, sobre todo en las industrias de fundición, desguace e impresión, en la producción de baterías y de pigmentos, en las industrias químicas y de plásticos, así como en la minería y en la metalurgia [3]. Dado que el nivel de plomo en orina refleja la cantidad de elemento que ha sido recientemente absorbido, su determinación es un instrumento útil para evaluar la exposición ocupacional y ambiental [4], pero el control de elementos traza en la orina es una tarea difícil debido a la complejidad de la matriz y a la baja concentración de analito [5]. Por ese motivo, la determinación de Pb en orina requiere una etapa de tratamiento previo, así como técnicas instrumentales de determinación sensibles, tales como la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) [6,7].

Para la determinación de este elemento en orina en concentraciones normales se ha utilizado habitualmente la técnica de ETAAS. Sin embargo, la matriz de la muestra representa el principal inconveniente para estas medidas, debido a que la orina presenta una cantidad considerable de numerosos compuestos que pueden producir atomización incompleta, volatilización del plomo, altos niveles de fondo y la formación de residuos carbonosos en el atomizador [8]. Para superar estos problemas es esencial emplear un horno con plataforma de temperatura estabilizada, así como diferentes modificadores de matriz y corrección de fondo Zeeman [9-11]. Sin embargo, todas estas estrategias no son suficientes para eliminar todos los problemas en las determinaciones en orina y puede ser necesario eliminar la matriz de la muestra [12]. Por estas razones, antes de la medida, se han aplicado diversas técnicas para la separación del plomo de la orina. La técnica más utilizada para este objetivo es la extracción en fase sólida (SPE) [13-15], ya que ha demostrado ser una de las más adecuadas, debido a las

siguientes ventajas: alto factor de enriquecimiento, buena recuperación, rapidez, uso de pequeñas cantidades de disolventes orgánicos, posibilidad de automatización de todo el proceso y disponibilidad de una amplia variedad de adsorbentes.

Desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono (CNTs) en 1991 por Iijima [16], se hizo evidente que estos podrían ser un excelente material para SPE debido a su elevada área superficial y su volumen interno, su estabilidad, resistencia mecánica y la posibilidad de establecer interacciones π - π . Por este motivo, desde 1995 han aumentado significativamente los trabajos que han utilizado diversos tipos de nanotubos de carbono como adsorbentes en SPE para la preconcentración de metales [17,18]. En el caso del Pb, se han propuesto diferentes procedimientos de SPE utilizando CNTs brutos y oxidados para separar y preconcentrar el metal, ya sea directamente, en forma de iones Pb(II) [19-21], o como quelatos de metal [22,23]. En otros métodos se han empleado CNTs funcionalizados como adsorbentes [24-26]. En todos los casos, después de la extracción, el Pb se midió mediante diferentes técnicas de espectrometría atómica con resultados adecuados, pero todos estos métodos fueron desarrollados principalmente para realizar la determinación en una matriz simple, como es el caso de diversos tipos de agua.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar un método SPE-ETAAS para la determinación de Pb en orina usando nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) como adsorbente. El procedimiento de SPE logra la eliminación de la matriz de orina y evita la necesidad de otros tratamientos previos de la muestra. Además, se obtuvieron unas características analíticas apropiadas para el método. Mediante la medida de muestras reales de orina se demostró la capacidad del método desarrollado para el control de la exposición al Pb.

3.3.2. Material y métodos

3.3.2.1. Aparatos y programa estadístico

Para el presente trabajo se empleó un espectrómetro de absorción atómica, Varian-SpectrAA-600 con corrector Zeeman (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) equipado con un atomizador electrotérmico Varian GTA-100 y un dispensador automático de muestras. Las medidas se realizaron a 283.3 nm, con una intensidad de corriente de 10 mA, utilizando una lámpara de Pb de cátodo hueco Varian. El ancho de banda empleado fue 1.0 nm. Se empleó

argón como gas inerte a una velocidad de flujo de 300 mL min⁻¹. Se utilizaron también tubos de atomización recubiertos de grafito pirolítico con una plataforma Omega preinsertada (Schunk Ibérica SA, Madrid, España). Para impulsar tanto la muestra como los reactivos se empleó una bomba peristáltica Gilson Minipuls-3 (Gilson Inc., Middleton, WI, USA) equipada con tubos de Tygon de 1.42 mm de diámetro interno (Ismatec, Wertheim, Alemania). Para las conexiones se usaron tubos de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.5 mm de diámetro interno y diferentes terminales y conectores (Omnifit-Diba Industries Ltd, Cambridge, Reino Unido). Las medidas del pH se realizaron utilizando un medidor de pH HI221 Calibration Check Microprocessor (Hanna Instruments SL, España).

Los diseños de experimentos así como las gráficas de Pareto y de superficie de respuesta para la optimización del método desarrollado se hicieron utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI versión. 16.01.15 (Rockville, MD, USA).

3.3.2.2. Reactivos

Los nanotubos de carbono de pared múltiple sin tratar (pureza > del 95 %, 20-30 nm de diámetro externo y ~ 30 µm de longitud), preparados por deposición química en fase vapor (CVD) de acetileno en un flujo de hidrógeno, fueron suministrados por Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd (Chengdu, China).

La disolución patrón de Pb (1.0 g L⁻¹) empleada se obtuvo en Panreac (Barcelona, España), diluyéndose adecuadamente para obtener las disoluciones patrón de trabajo. El dihidrógeno fosfato amónico se obtuvo en Fluka (Buchs, Suiza). El ajuste de pH de las muestras de orina se llevó a cabo utilizando diferentes disoluciones de ácido nítrico obtenidas a partir de HNO₃ ultrapuro (Merck, Darmstadt, Alemania). Todos los materiales se lavaron con ácido nítrico al 10 % (v/v) durante 24 h, después se enjuagaron con abundante agua ultrapura y se secaron antes de ser utilizados. La disolución de limpieza empleada para lavar el capilar de muestreo se preparó con HNO₃ 0.7 % (m/v) y Triton X-100 0.2 % (v/v) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

3.3.2.3. Pretratamiento de los MWCNTs y preparación de la microcolumna

La oxidación de los MWCNTs introduce grupos hidroxilo, carbonilo y carboxilo en su superficie, lo cual mejora su solubilidad y consigue que radicales, que contienen oxígeno y con capacidad para retener una variedad de iones metálicos al pH apropiado, se unan a su superficie [18]. En el presente trabajo los nanotubos de carbono se oxidaron por un procedimiento, descrito con detalle en un trabajo previo [27], asistido por microondas empleando una mezcla de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KMnO}_4$ como oxidante. La funcionalización de la superficie obtenida mediante la oxidación se determinó cuantitativamente utilizando el método de valoración de Boehm [28] y se obtuvo una acidez superficial adecuada (3.02 mmol g^{-1}). Los nanotubos de carbono de pared múltiple oxidados (45 mg) se empaquetaron en una microcolumna de PTFE de $35 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ (id), taponando con una pequeña porción de lana de vidrio ambos extremos para evitar pérdidas de adsorbente durante el proceso de extracción. Antes de su uso, la columna se lavó y acondicionó pasando a través de ella 2 mL de una disolución de ácido nítrico 1.0 M seguido por 4 mL de agua ultrapura.

3.3.2.4. Muestras de orina

Las muestras de orina fresca de personas sanas y sin antecedentes de exposición al plomo se recogieron en recipientes de polipropileno lavados con ácido. Su preparación se realizó de la forma siguiente: una cantidad adecuada de orina se trató con una disolución de HNO_3 0.1M a pH 4.0 y se diluyó al 40 % (v/v) antes de someterla al proceso de extracción en fase sólida y al posterior análisis por ETAAS. Cuando el análisis no se realizó de forma inmediata las muestras de orina se almacenaron a 4°C (manteniéndolas así el menor tiempo posible).

3.3.2.5. Procedimiento analítico SPE-ETAAS

Para lograr la retención de los iones de Pb en los MWCNTs, se pasó una alícuota de 4 mL de muestra de orina (tratada como se indica en la Sección 3.3.2.4) a través de la microcolumna con la ayuda de una bomba peristáltica y a un caudal de 1.1 mL min^{-1} . En un segundo paso, 1.5 mL de disolución de HNO_3 0.1 M se pasaron a través de la columna a un caudal de 0.6 mL min^{-1} para eliminar la matriz de orina. Los iones Pb retenidos se eluyeron posteriormente mediante el empleo de 1.5 mL de una disolución más concentrada de HNO_3

0.7 M (a una velocidad de flujo de 0.4 mL min^{-1}). Posteriormente $20 \text{ }\mu\text{L}$ de la disolución eluida se mezclaron con $2 \text{ }\mu\text{L}$ de una disolución acuosa de modificador de matriz ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.005 % (m/v)) y la muestra resultante se sometió a la determinación del contenido de plomo presente mediante ETAAS bajo las condiciones optimizadas indicadas en la Tabla 18. Todas las medidas se hicieron en el modo de absorbancia de área integrada y se utilizaron simultáneamente ocho microcolumnas en el procedimiento de SPE.

3.3.3. Resultados y discusión

3.3.3.1. Optimización de la SPE

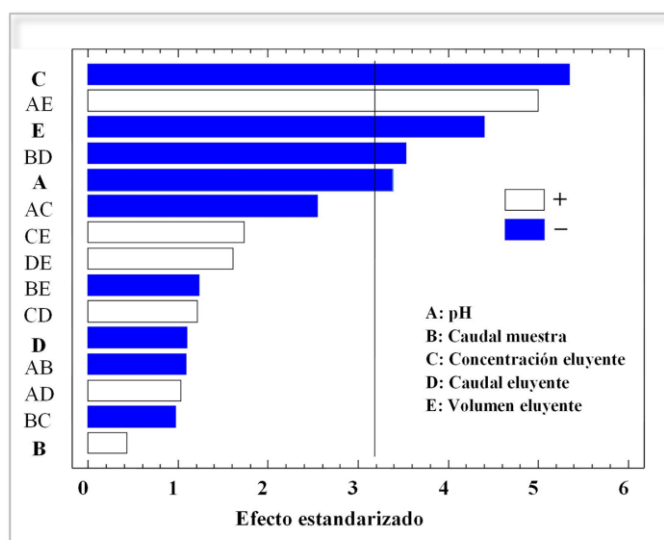
Se estudiaron las variables que influyen en la retención de la SPE de los iones de plomo en los MWCNTs empaquetados en la microcolumna. Dado que la oxidación de los nanotubos de carbono conduce a la formación de grupos activos hidroxilo, carbonilo y carboxilo en su superficie, es evidente que el pH de la disolución que pasa por la columna afectará a la estructura del adsorbente, así como al grado de ionización y especiación de los iones adsorbidos. En este caso, el rango de pH estudiado fue entre 4.0 y 8.0 debido a que: (i) a valores de pH inferiores a 4.0, los grupos activos $-\text{OH}$ y $-\text{COOH}$ están cargados positivamente y esto podría causar condiciones desfavorables para la retención de iones de plomo, y (ii) a valores de pH superiores a 8, el plomo iónico precipitará como hidróxido. El eluyente y su concentración son otros de los factores críticos en la SPE, en este trabajo se seleccionó el ácido nítrico, porque se demostró que produce una elución satisfactoria y un fondo muy bajo en los análisis posteriores por ETAAS [29]. La velocidad de flujo de la muestra y del eluyente también fueron considerados en esta etapa de optimización, teniendo en cuenta la necesidad de lograr un equilibrio entre la eficiencia y el tiempo.

Se llevó a cabo la optimización de las variables citadas con el fin de seleccionar los mejores valores para los parámetros que influyen en el procedimiento de SPE. Inicialmente, el pH, la velocidad de flujo de muestra, la velocidad de flujo del eluyente, así como el volumen y concentración de eluyente se evaluaron por medio de un estudio de cribado utilizando un diseño factorial fraccional 2^{5-1} en 16 experimentos aleatorios realizados por triplicado (Tabla 17).

Tabla 17. Variables estudiadas en los diseños factoriales aplicados para la optimización.

Variables	Nivel inferior (-)	Nivel superior (+)
pH	4.0	8.0
Velocidad flujo muestra (mL min^{-1})	0.5	1.1
Velocidad flujo eluyente (mL min^{-1})	0.4	1.3
Concentración eluyente (M)	0.25	0.75
Volumen eluyente (mL)	0.5	2.5
Temperatura mineralización ($^{\circ}\text{C}$)	350	1000
Temperatura atomización ($^{\circ}\text{C}$)	1300	1650
Concentración $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (%)	0.0	0.5

En la Figura 60 se muestra el diagrama Pareto obtenido a partir de este diseño, en él se observa que el pH, la concentración de eluyente y el volumen de eluyente son los factores que influyen de forma significativa en el proceso de SPE. En consecuencia, se llevó a cabo un estudio de optimización más detallado para estas tres variables, empleando para ello un diseño composicional central 2^3 + estrella en 16 experimentos aleatorios (el punto central se analizó dos veces).

Figura 60. Gráfico Pareto obtenido usando un diseño experimental factorial fraccionado de cribado 2^{5-1} .

Las superficies de respuesta obtenidas a partir de este diseño nos indican que los valores óptimos para las tres variables fueron los siguientes: pH de la muestra 4.0, volumen de eluyente 0.99 mL (aproximadamente 1.0 mL) y concentración de eluyente 0.7 M (ver Figura 61). Sin embargo, bajo estas condiciones, se detectaron algunos problemas relativos a la reproducibilidad de las medidas de Pb, que podrían ser debidos al bajo volumen de eluyente seleccionado. Por esta razón, se realizó a continuación un estudio univariante de este parámetro; y en base a la eficacia de extracción obtenida para diferentes volúmenes de extracción (0.5 a 2.0 mL), se demostró que el uso de 1.5 mL de HNO_3 0.7 M producía una alta eficacia de extracción (similar a 1.0 mL) pero con un mejor resultado en cuanto a reproducibilidad (Figura 62). Por tanto, teniendo en cuenta un equilibrio entre la eficacia de la extracción y la reproducibilidad de las medidas, se seleccionó como volumen de elución óptimo 1.5 mL de disolución de ácido nítrico.

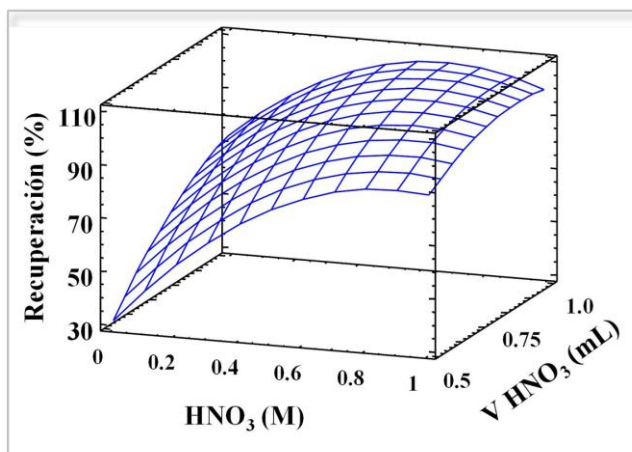


Figura 61. Superficie de respuesta del efecto del volumen y la concentración de la solución de elución ($R^2 = 98.56\%$).

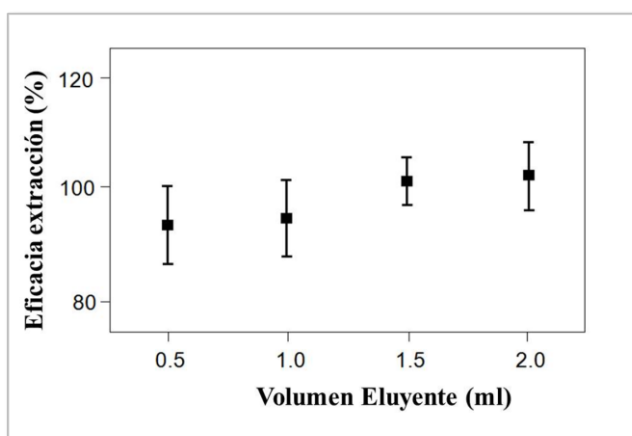


Figura 62. Eficiencia de extracción obtenida para diferentes volúmenes de ácido nítrico ($n = 5$), $[\text{HNO}_3] = 0.7\text{ M}$. (Las barras de error corresponden a \pm desviación estándar.)

También se comprobó que las mejores eficacias de extracción se logran a caudales bajos, sin embargo, el uso de estas bajas velocidades de flujo aumenta drásticamente el tiempo de análisis; en consecuencia, se tuvo que buscar un equilibrio adecuado entre velocidad de flujo y tiempo. Por este motivo, las velocidades de flujo de muestra y de eluyente se evaluaron por medio de estudios univariados (en las condiciones previamente optimizadas para los otros parámetros) en el rango de 0.4 a 1.4 mL min^{-1} . Los valores óptimos para la eficacia de la

extracción se obtuvieron con una velocidad de flujo de muestra de 1.1 mL min^{-1} y una velocidad de flujo de elución de 0.4 mL min^{-1} .

3.3.3.2. Efecto de la dilución de la orina, volumen de muestra y masa de adsorbente

En base a la propia experiencia, el uso de muestras diluidas en combinación con la inclusión de una precolumna con fibra de vidrio, han demostrado ser una buena estrategia para evitar el bloqueo de la columna o la aparición de sobrepresiones. Se estudiaron muestras de orina preparadas a diferentes diluciones (20 a 50 % v/v), se seleccionó como óptima una dilución del 40 % (v/v) ya que ésta evita el bloqueo de la columna y no afecta a la sensibilidad del método. El siguiente parámetro a estudiar fue el volumen de muestra de trabajo. Es evidente que el uso de un elevado volumen de muestra podría mejorar la sensibilidad, sin embargo, el uso de estos elevados volúmenes provoca un aumento significativo del tiempo requerido para pasar la muestra a través de la columna. Además, la masa de MWCNTs necesaria para garantizar la correcta retención del analito, también será mayor cuanto mayor sea dicho volumen. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se estudió el volumen de muestra en el rango de 2 a 10 mL y la masa de MWCNTs en la columna de SPE en un rango de 5 a 50 mg. Una vez realizados los experimentos se han seleccionado como valores óptimos 4 mL de volumen de muestra y 45 mg de masa de MWCNTs. Con estos parámetros se comprobó que proporcionaban la suficiente sensibilidad para la determinación de Pb en orina en un tiempo de extracción adecuado: para 4 mL de muestra (a una velocidad de flujo de 1.1 mL min^{-1} y teniendo en cuenta los volúmenes muertos en los tubos de PTFE y conexiones) se requieren aproximadamente 5 min para el paso completo de la muestra por la columna.

3.3.3.3. Optimización de las condiciones ETAAS

La determinación directa de plomo en orina por ETAAS presenta algunos inconvenientes ocasionados por la presencia de componentes orgánicos en la matriz de muestra. Entre ellos está la volatilización de la fase orgánica que conduce a una sobreestimación de la concentración de plomo, problemas con la dispensación de la gota de muestra debido a la tensión superficial del líquido y la necesidad de utilizar patrones no acuosos en algunos casos [30]. En este trabajo, las muestras de orina fueron sometidas a la determinación por

ETAAS después del tratamiento de SPE con el cual se logró la eliminación previa de la matriz. Por ese motivo la determinación por ETAAS se llevó a cabo utilizando un método con condiciones menos severas que las requeridas en otros métodos sin tratamiento previo de extracción. En base a los resultados citados por otros autores y en estudios previos [11,31,32], se seleccionó $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador químico adecuado.

Se estudió el efecto de las temperaturas de mineralización y atomización, junto con la concentración de modificador, en la absorbancia del plomo para muestras de orina eluida en los intervalos indicados en la Tabla 17 y utilizando un diseño de Box-Behnken mediante 15 experimentos aleatorios. Como se puede observar en la Figura 63, el valor óptimo para la temperatura de mineralización fue de 350 °C y de 1550 °C para la temperatura de atomización. En este estudio se obtuvo además un óptimo de 0.005 % para la concentración de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Para temperaturas de atomización superiores a 1650 °C se observó una pérdida significativa de analito, lo que daría lugar a una disminución también significativa en la señal de absorbancia. La pequeña cantidad de modificador es consecuencia de la eliminación de la matriz de la muestra llevada a cabo mediante el tratamiento por SPE. También se estudiaron y optimizaron el resto de los parámetros de la cámara de grafito, tales como rampas de temperatura y permanencia teniendo en cuenta los valores obtenidos en estudios anteriores y las características de la muestra a emplear [32].

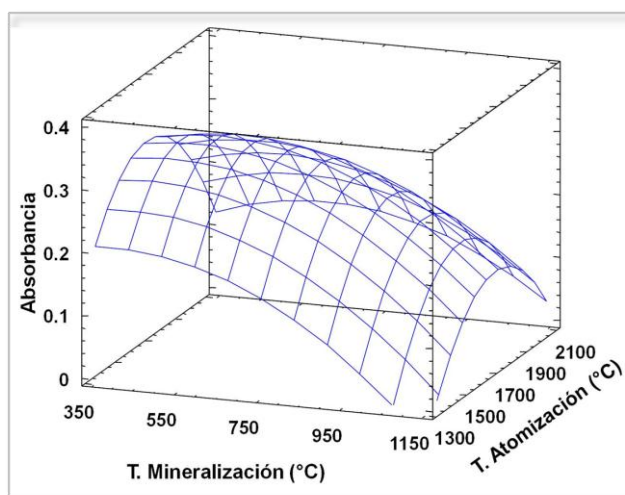


Figura 63. Superficie de respuesta para el efecto de la temperatura de mineralización y atomización.

Las condiciones óptimas de funcionamiento de la cámara, para producir la mejor señal analítica así como una forma de picos correcta, se enumeran en la Tabla 18.

Tabla 18. Programa de calentamiento del horno para la determinación de Pb por ETAAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanencia (s)
Secado	90	30	25
Mineralización	350	15	5
Atomización*	1550	1	3
Limpieza	2400	1	2
Enfriamiento	40	40	0

*Flujo de Ar detenido

3.3.3.4. Evaluación de interferencias

Se estudió el efecto que tiene la presencia de otros cationes en la determinación de la concentración de Pb(II) contenido en la orina. Los experimentos para estudiar las interferencias se llevaron a cabo bajo las condiciones óptimas descritas en la Sección 3.3.2.5 empleando una disolución de orina conteniendo $30 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb. Cada interferencia se evaluó individualmente y fue considerada positiva si los iones extraños causaron un cambio mayor del $\pm 10 \%$ en la recuperación del plomo. Se

Tabla 19. Efecto de algunos iones extraños en el método desarrollado para la determinación de Pb.

Ion estudiado	Concentración (mg L^{-1})	Recuperación (%) [*]
Fe ²⁺	5	98
Zn ²⁺	5	98
Ni ²⁺	5	103
Co ²⁺	5	101
Cu ²⁺	5	104
Cd ²⁺	5	99
Rb ⁺	5	95
Se ⁴⁺	5	100
Cr ³⁺	1	101

*Recuperación de una muestra de orina que contiene $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb

examinaron las interferencias de iones de metales de transición típicos, tales como Fe(III), Zn(II), Cr(III), Ni(II), Se(IV), Co(II), Cu(II) y Cd(II), en concentraciones de hasta 10 mg L^{-1} . Los resultados se muestran en la Tabla 19. Se comprobó que todos los iones estudiados fueron tolerados en concentraciones considerablemente superiores a los niveles presentes en las muestras de orina.

3.3.3.5. Reutilización de la columna

La reutilización de la columna de extracción/preconcentración es un factor importante a tener en cuenta para la aplicabilidad general de los métodos de SPE basados en MWCNTs. La estabilidad a largo plazo y la capacidad de regeneración de los sistemas de adsorción durante un elevado número de ciclos son factores muy deseables y constituyen una indicación útil de

aplicabilidad. La estabilidad de los MWCNTs en este procedimiento se estudió pasando de forma sucesiva por la columna 4 mL de muestra de orina (preparadas como se indica en la Sección 3.3.2.4), realizando el proceso de elución y posteriormente la medida en las condiciones óptimas establecidas en la Sección 3.3.2.5. Después de cada paso, la columna se regeneró con 2 mL de HNO_3 1 M y 4 mL de agua Milli-Q y se pudieron realizar hasta 50 ciclos de adsorción-desorción en las microcolumnas, manteniendo la eficacia de extracción sin bloqueos ni sobrepresiones.

3.3.3.6. Características analíticas del método

Con el fin de evaluar las características analíticas del método desarrollado, se estudiaron la linealidad, límites de detección y cuantificación, así como la precisión y la exactitud. El método propuesto mostró una respuesta lineal para las muestras de orina desde el LOD ($0.08 \mu\text{g L}^{-1}$) hasta 120 g L^{-1} de Pb, obteniéndose para el procedimiento SPE acoplado a la determinación por ETAAS la siguiente recta de calibrado:

$$A_{\text{int}} = (1.10 \times 10^{-2} \pm 1.9 \times 10^{-4}) [\text{Pb } (\mu\text{g L}^{-1})] (8.4 \times 10^{-3} \pm 4.8 \times 10^{-3}) \quad r = 0.999$$

Con el fin de verificar la eliminación de la matriz de la muestra, se prepararon las curvas de calibrado tanto para la calibración externa como para el método de adiciones estándar. Se realizó un test Anova para comparar las pendientes de las dos curvas y no se encontraron diferencias significativas entre las pendientes de la curva de calibración y la curva de adición (nivel de confianza del 95 %). Este hecho se confirmó también observando el fondo y los perfiles del pico de Pb de la muestra de orina pura y del eluido obtenido tras la SPE (Figura 64). Para las muestras de orina, el pico obtenido presentó un fondo significativo, mientras que cuando se analizó la disolución eluida se obtuvo un pico más alto, bien formado y sin fondo. Como resultado, las medidas de Pb en orina se realizaron utilizando la curva de calibración.

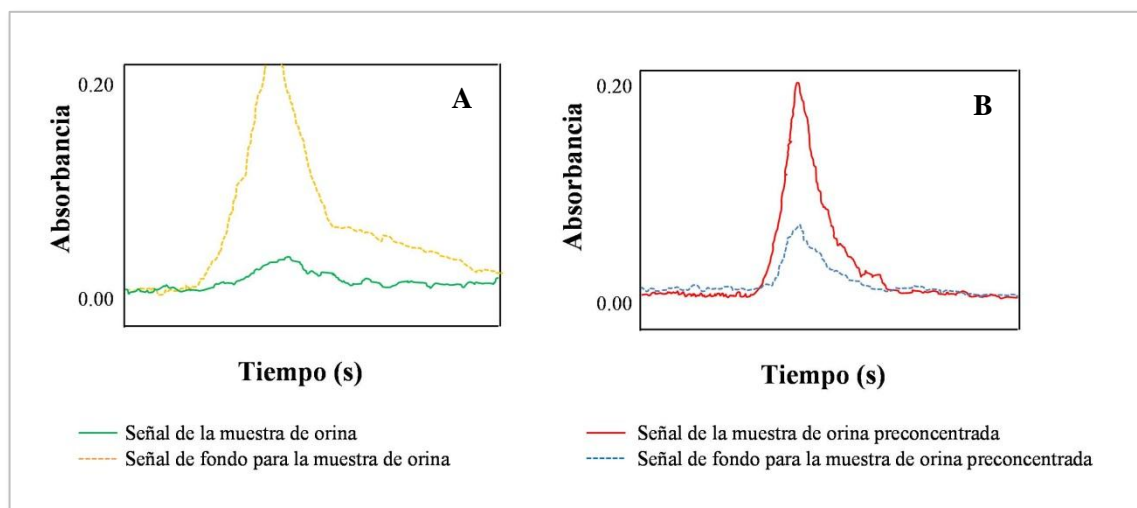


Figura 64. Señal de plomo y del fondo para una muestra de orina, preparada como se indica en la Sección 3.3.2.4., conteniendo $6.95 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A) sin procedimiento SPE; B) con procedimiento SPE.

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se calcularon como $3\text{SD}/m$ y $10\text{SD}/m$, respectivamente, donde m es la pendiente de la curva de calibración y SD la desviación estándar de 10 mediciones consecutivas de disoluciones de blancos. Los valores de LOD y LOQ obtenidos fueron 0.08 y $0.26 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, siendo éstos aceptables para la medición de Pb en los bajos niveles habituales en orina humana. El LOD obtenido es mejor (o comparable) con los publicados para otros métodos de determinación mediante ETAAS en bibliografía, excepto en el caso del trabajo de Sung y Huang (5 ng L^{-1}) [15]. Sin embargo, hay que señalar que estos autores aplicaron una digestión previa de la muestra y utilizaron un sofisticado sistema de preconcentración por inyección en flujo en línea fabricado en el propio laboratorio.

La precisión del método se evaluó mediante la medición de diez ciclos independientes de extracción/elución SPE para muestras de orina adicionadas con $5, 10, 30, 60, 90$ y $120 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Las desviaciones estándar relativas (RSD) obtenidas fueron: $4.3, 8.2, 4.5, 5.8, 3.4$ y 3.4% , respectivamente. Dado que las columnas utilizadas en este trabajo se prepararon en el laboratorio, también se estudió la reproducibilidad de la preparación de la columna, con el fin de estimar si este factor influye en los resultados obtenidos. Se prepararon ocho columnas iguales y se empaquetaron como se describe en la Sección 3.3.2.3. Alícuotas de la misma muestra de orina se sometieron a SPE usando las ocho columnas y posteriormente se midieron por ETAAS bajo las condiciones optimizadas. Los resultados obtenidos para la concentración

de Pb, utilizando las ocho columnas preparadas, se compararon aplicando una prueba de Anova. Con un nivel de confianza del 95 %, el factor evaluado no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la señal analítica, confirmando así la reproducibilidad de los resultados obtenidos con las diferentes columnas preparadas en el laboratorio.

La exactitud del método propuesto se evaluó mediante el estudio de la recuperación analítica. Una muestra de orina con $5.31 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, preparada como se indica en la Sección 3.3.2.4, se suplementó con diferentes cantidades de Pb en el intervalo de $5\text{-}90 \mu\text{g L}^{-1}$ y se midió en las condiciones descritas anteriormente en la Sección 3.3.2.5. En la Tabla 20, puede verse que se obtuvieron valores de recuperación en el rango de 97-106 %. Además para completar este estudio, se midieron comparativamente y por triplicado, cinco muestras de orina, con baja concentración de Pb, de personas no fumadoras y no expuestas: (i) por el presente método propuesto y (ii) por un método descrito por Nakagawa y col. [33] basado en la digestión ácida asistida por microondas de la muestra y posterior determinación por ICP-MS realizada en un laboratorio externo. Los resultados se presentan en la Tabla 21 y, como se puede observar, se obtuvo una buena concordancia entre los niveles determinados por ambos métodos. Los resultados de una prueba por parejas no mostraron ninguna diferencia estadística (a un nivel de confianza del 95 %) para los resultados obtenidos.

Tabla 20. Exactitud del método propuesto: estudio de la recuperación.

[Pb] añadido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	[Pb] encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)*	Recuperación Pb (%)
0	5.31 ± 0.44	-
5	10.59 ± 0.26	106
10	15.41 ± 0.51	102
30	34.31 ± 1.74	97
60	65.11 ± 5.33	100
90	97.21 ± 4.94	102

* Media \pm desviación estándar (n = 3).

Tabla 21. Exactitud del método propuesto: comparación de resultados entre el método ETAAS propuesto y un método de ICP-MS.

Muestra (n=3)	[Pb] encontrado* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	ETAAS	ICP-MS
1	3.64 ± 0.29	3.48 ± 0.41
2	4.06 ± 0.45	4.32 ± 0.22
3	5.31 ± 0.44	5.05 ± 0.26
4	6.02 ± 0.11	6.79 ± 0.93
5	4.49 ± 0.44	4.79 ± 0.47

* Media \pm desviación estándar (n=3).

La mejora de la sensibilidad para la técnica de ETAAS debida a la simplificación de la matriz (que se logra mediante la inserción de la etapa de SPE con MWCNTs) se evidenció mediante el cálculo del factor de mejora de la señal (SEF). Este parámetro se calculó como la relación entre las pendientes de las curvas de análisis obtenidas con y sin la etapa de SPE, con valores expresados en porcentaje. El SEF alcanzado fue de un 640 %.

El ciclo entero propuesto para la extracción/elución de una muestra requiere aproximadamente 25 min. Sin embargo, sería sencillo mejorar este tiempo de análisis mediante el uso simultáneo de varias columnas para extraer diferentes muestras de orina con una simple SPE multicanal; en el presente trabajo, se utilizaron simultáneamente ocho microcolumnas para el análisis de muestras reales. Esta modificación permitió procesar entre 19-20 muestras por hora. Las características analíticas del método propuesto han sido favorables, en comparación con otros métodos publicados en la bibliografía, tal y como se puede observar en la Tabla 22.

Tabla 22. Comparación de métodos publicados para la determinación de Pb por ETAAS con el propuesto en este trabajo.

Técnica	Dilución muestra/ preconcentración	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Exactitud (%)	RSD (%)	Ref.
ETAAS	--- / CPE: DDTP	0.04	96-110	---	[5]
THFA-ETAAS	1:5 -1:10 / fibra de carbono colector W	0.2	74-100	≤ 2.5	[9]
EC-THGA SIMAAS	1:4 / ---	0.57	---	1.7	[11]
ETAAS	--- /SPE: nano-partículas-Ag + Morina	0.068	97-101	< 4.1	[14]
FI THGA-SIMAAS	muestra digerida / SPE: resina Muromac A-1	0.0045	91-97	3.8	[15]
THGA-ETAAS	1:9 / USLE	0.7	---	5.7	[30]
FI ETAAS	1:2/SPE: DETATA	0.2	97	---	[34]
ETAAS	1:2 / ---	0.83	100.16	2.98	[35]
ETAAS	2:5 / SPE: nanotubos de carbono	0.08	96.8-105.6	3.4-8.2	Propuesto

THFA: Filtro atomizador calentado transversalmente; EC-THGA: atomizador de grafito tapado en los extremos y calentado transversalmente; SIMAAS: espectrometría de absorción atómica electrotrémica simultánea; FI: inyección en flujo; CPE: extracción en el punto de nube; DDTP: O,O-dietil ditiofosfato de amonio; USLE: extracción sólido-líquido asistida por ultrasonidos; DETATA: copolímero de poliestireno-divinilbenceno.

3.3.3.7. Análisis de muestras reales de orina

El método desarrollado en este trabajo se aplicó para determinar el contenido de Pb en muestras de orina de personas sanas y sin antecedentes de exposición al plomo. Las muestras fueron recogidas en recipientes estándar de plástico para el análisis de orina, de acuerdo con las recomendaciones del Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico [6]. Se establecieron dos grupos, fumadores y no fumadores y las muestras de orina se analizaron de acuerdo con el método propuesto. Para el grupo de no fumadores, las concentraciones de Pb encontradas estaban en el rango de 3.64 a 15.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que las concentraciones presentes en la orina de los fumadores eran más altas, oscilando entre 11.6 y 22.9 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.4. Conclusiones

Se ha desarrollado un procedimiento de extracción en fase sólida SPE usando nanotubos de carbono de pared múltiple como material adsorbente para la extracción de Pb de muestras de orina humana antes de la determinación por ETAAS. Los iones de Pb(II) fueron retenidos en los MWCNTs oxidados y eluidos con éxito mediante una disolución de ácido nítrico. Las muestras se midieron por ETAAS y se obtuvieron unas características analíticas satisfactorias. El método desarrollado tiene varias ventajas en comparación con otros métodos para la determinación de Pb en orina: (i) la eliminación de la matriz permite la medición del plomo en las muestras de orina sin otros procedimientos de pretratamiento; (ii) la ausencia de un efecto matriz permite la medición directa en la curva de calibrado en lugar de tener que emplear un procedimiento de adición estándar; y (iii) el límite de detección del método propuesto ($\text{LOD} = 0.08 \mu\text{g L}^{-1}$) permite la determinación de niveles bajos de Pb en muestras de orina.

En base a estos resultados se ha confirmado que la notable capacidad de los MWCNTs como adsorbente en SPE, permite la eliminación del efecto de matriz facilitando la determinación de plomo en niveles de ultratrazas en métodos basados en la técnica de ETAAS. De la misma manera se demuestra la utilidad del presente método para la evaluación de la exposición ocupacional al plomo.

3.3.5. Referencias

- [1] H. Needleman. Lead poisoning. *Annual Review of Medicine* 55 (2004) 209–222.
- [2] C. Zeng, X. Wen, Z. Tan, P. Cai, X. Hou. Hollow fiber supported liquid membrane extraction for ultrasensitive determination of trace lead by portable tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal* 96 (2010) 238–242.
- [3] S. Hernberg. Lead poisoning in a historical perspective. *American Journal of Industrial Medicine* 38 (2000) 244–254.
- [4] M. Yaman. Determination of cadmium and lead in human urine by STAT-FAAS after enrichment on activated carbon. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1999) 275–278.
- [5] T.A. Maranhão, E. Martendal, D.L.G. Borges, E. Carasek, B. Welz, A.J. Curtius. Cloud point extraction for the determination of lead and cadmium in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with multivariate optimization using Box–Behnken design. *Spectrochimica Acta B* 62 (2007) 1019–1027.
- [6] P.J. Parsons, J.J. Chisolm, H.T. Delves, R. Griffin, E.W. Gunter, W. Slavin, N.V. Stanton, R. Vocke. C40-A: Analytical Procedures for the Determination of Lead in Blood and Urine; Approved Guideline. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA (2001).
- [7] WHO. Brief Guide to Analytical Methods for Measuring Lead in Blood. World Health Organization, Geneva, Switzerland, (2011).
http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/lead_blood.pdf
- [8] N. Campillo, P. Viñas, I. López-García, M. Hernández-Córdoba. Rapid determination of lead and cadmium in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry using Zeeman correction. *Analytica Chimica Acta* 390 (1999) 207–215.
- [9] P. Ngoben, C. Canario, D.A. Katskov, Y. Thomassen. Transverse heated filter atomizer: atomic absorption determination of Pb and Cd in urine. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 762–768.
- [10] I.L. Grinshtein, Y.A. Vilpan, A.V. Saraev, L.A. Vasilieva. Direct atomic absorption determination of cadmium and lead in strongly interfering matrices by double vaporization with a two-step electrothermal atomizer. *Spectrochimica Acta B* 56 (2001) 261–274.
- [11] P.R.M. Correia, C.S. Nomura, P.V. Oliveira. Multielement determination of cadmium and lead in urine by simultaneous electrothermal atomic absorption spectrometry with an end-capped graphite tube. *Analytical Sciences* 19 (2003) 1519–1523.
- [12] Z. Čanký, P. Rychloský, Z. Petrová, J.P. Matousek. A technique coupling the analyte electrodeposition followed by in situ stripping with electrothermal atomic absorption spectrometry for analysis of samples with high NaCl contents. *Spectrochimica Acta B* 62 (2007) 250–257.
- [13] T.Q. Shi, P. Liang, J. Li, Z.C. Jiang, B. Hu. Nanometer TiO₂ separation/preconcentration and GFAAS determination of trace Pb in water samples. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 32 (2004) 1421–1423.
- [14] M. Khajeh, E. Sanchooli. Silver nanoparticles as a new solid phase adsorbent and its application to preconcentration and determination of lead from biological samples. *Biological Trace Element Research* 143 (2011) 1856–1864.

- [15] Y.H. Sung, S.D. Huang. On-line preconcentration system coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of bismuth, cadmium, and lead in urine. *Analytica Chimica Acta* 495 (2003) 165–176.
- [16] S. Iijima. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354 (1991) 56–58.
- [17] A.V. Herrera-Herrera, M.A. González-Curbelo, J. Hernández-Borges, M.A. Rodríguez-Delgado. Carbon nanotubes applications in separation science: a review. *Analytica Chimica Acta* 734 (2012) 1–30.
- [18] C. Herrero Latorre, J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente. Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to atomic spectrometric determination of metal species: a review. *Analytica Chimica Acta* 749 (2012) 16–35.
- [19] A.F. Barbosa, M.G. Segatelli, A.C. Pereira, A.S. Santos, L.T. Kubota, P.O. Luccas, C.R.T. Tarley. Solid-phase extraction system for Pb(II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* 71 (2007) 1512–1519.
- [20] S. Chen, C. Liu, M. Yang, D. Lu, L. Zhu, Z. Wang. Solid-phase extraction of Cu, Co and Pb on oxidized single-walled carbon nanotubes and their determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 170 (2009) 247–251.
- [21] M. Savio, B. Parodi, L.D. Martínez, P. Smichowski, R.A. Gil. On-line solid phase extraction of Ni and Pb using carbon nanotubes and modified carbon nanotubes coupled to ETAAS. *Talanta* 85 (2011) 245–251.
- [22] H. Tavallali, H. Asvad. Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of Pb(II) after solid phase extraction using multiwalled carbon nanotube. *International Journal of ChemTech Research* 3 (2011) 1635–1640.
- [23] A. Duran, M. Tuzen, M. Soylak. Preconcentration of some trace elements via using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction. *Journal of Hazardous Materials* 169 (2009) 466–471.
- [24] R. Li, X. Chang, Z. Li, Z. Zang, Z. Hu, D. Li, Z. Tu. Multiwalled carbon nanotubes modified with 2-aminobenzothiazole modified for uniquely selective solid-phase extraction and determination of Pb(II) ion in water samples. *Microchimica Acta* 172 (2011) 269–276.
- [25] Y. Cui, S. Liu, Z.J. Hu, X.H. Liu, H.W. Gao. Solid-phase extraction of lead(II) ions using multiwalled carbon nanotubes grafted with tris(2-aminoethyl)amine. *Microchimica Acta* 174 (2011) 107–113.
- [26] Z. Zang, Z. Hu, Z. Li, Q. He, X. Chang. Synthesis, characterization and application of ethylenediamine modified multiwalled carbon nanotubes for selective solid-phase extraction and preconcentration of metal ions. *Journal of Hazardous Materials* 172 (2009) 958–963.
- [27] J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, R.M. Peña Crecente, S. García Martín, C. Herrero Latorre. A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine. *Talanta* 85 (2011) 2361–2367.
- [28] H.P. Boehm. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon* 32 (1994) 759–769.
- [29] E. Hosten, B. Welz. Evaluation of an immobilised macrocyclic material for on-line column preconcentration and separation of cadmium, copper and lead for electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 392 (1999) 55–65.
- [30] D. Guimarães, J.P. Santos, M.L. Carbalho, G. Vale, H.M. Santos, V. Geraldes, I. Rocha, J.L. Capelo. Ultrasonic energy as a tool to overcome some drawbacks in the determination of lead in brain tissue and urine in rats. *Talanta* 86 (2011) 442–446.

- [31] P.J. Parsons, W. Slavin. Electrothermal atomization atomic absorption spectrometry for the determination of lead in urine: results of an interlaboratory study. *Spectrochimica Acta B* 54 (1999) 853–864.
- [32] J.C. Rodríguez García, J. Barciela García, C. Herrero Latorre, S. García Martín, R.M. Peña Crecente. Comparison of palladium–magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for lead determination in honey by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 91 (2005) 435–442.
- [33] J. Nakagawa, Y. Tsuchiya, Y. Yashima, M. Tezuka, Y. Fujimoto. Determination of trace levels of elements in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Health Science* 50 (2004) 164–168.
- [34] L.A. Vasil'eva, I.L. Grinshtein, S. Gucer, B. Izgi. Determination of lead and cadmium in urine by electrothermal atomization atomic spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry* 63 (2008) 649–654.
- [35] P. Olmedo, A. Pla, A.F. Hernández, O. López-Guarnido, L. Rodrigo, F. Gil. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 659 (2010) 60–67.

3.3.6. Publicación

La publicación en que se basa este capítulo se incluye a continuación:

Multiwalled carbon nanotubes as a sorbent material for the solid phase extraction of lead from urine and subsequent determination by electrothermal atomic absorption spectrometry.

Rosa M. Peña Crecente, Carlha Gutiérrez Lovera, Julia Barciela García, Jennifer Álvarez Méndez, Sagrario García Martín, Carlos Herrero Latorre.

Publicado en la revista: **Spectrochimica Acta Part B** 101 (2014) 15–20.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2014.07.005>

3.4. DETERMINACIÓN DE CADMIO Y PLOMO EN ORINA DESPUÉS DE SU EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EN NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED MÚLTIPLE POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA USANDO SUSPENSIONES

J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente,
C. Herrero Latorre

SPECTROCHIMICA ACTA PART B 106 (2015) 13–19

RESUMEN

Se ha desarrollado un nuevo método para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina, que implica su extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) y su determinación mediante espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) en las suspensiones obtenidas (SS). Como material adsorbente se emplearon nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) previamente oxidados. Los agregados MWCNTs/analito una vez aislados fueron tratados con ácido nítrico para formar una suspensión y ambos metales se determinaron directamente inyectando esta suspensión en el atomizador del equipo de ETAAS. Se han usado diferentes estrategias de diseño factorial para el estudio de los parámetros que influyen en la adsorción de los metales en los MWCNTs en el proceso de DSPE, en la formación de las suspensiones y en su extracción, y en las condiciones ETAAS. Los límites de detección y cuantificación obtenidos, bajo las condiciones optimizadas, fueron para el Cd de 9.7 y 32.3 ng L⁻¹ respectivamente, y para el Pb de 0.13 y 0.43 µg L⁻¹. Los factores de preconcentración logrados fueron de 3.9 y 5.4, y los valores RSD (n = 10) determinados fueron menores del 4.1 % y 5.9 % para el Cd y Pb, respectivamente. La exactitud del método se obtuvo mediante el estudio de la recuperación analítica, con valores comprendidos entre 96 y 102 % para el Cd y 97 y 101 % para el Pb. Además se realizó el análisis de un material de referencia obteniéndose resultados con unos buenos niveles de precisión y exactitud. El método propuesto DSPE–SS–ETAAS es una estrategia novedosa y útil para la determinación de Cd y Pb en orina, ya que es sensible, rápido, está libre de interferencias de matriz y evita las etapas de adsorción y elución en

columna necesarias en los procedimientos de SPE empleados habitualmente, que resultan largas y tediosas. El método propuesto se usó para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina de personas sanas no expuestas, obteniéndose resultados muy satisfactorios.

3.4.1. Introducción

Los metales pesados tienen graves efectos tóxicos en los organismos vivos debido a su naturaleza acumulativa. La exposición al plomo y al cadmio es el origen de diferentes enfermedades, y provoca efectos indeseables en la salud de humanos y animales [1]. La determinación de cadmio y plomo en muestras biológicas, como la orina, es una tarea difícil, a pesar de que en la actualidad se dispone de modernas técnicas analíticas de gran sensibilidad. Esta dificultad está asociada a la complejidad de la matriz de la orina, que puede interferir en la determinación, y a las bajas concentraciones que estos analitos presentan en las muestras de orina (los niveles normales para las personas sanas no expuestas son $\approx 1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd y $\approx 15 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb) [2]. Por esta razón, la determinación de Cd y Pb en orina, requiere normalmente de una etapa de pretratamiento de la muestra (para eliminar la matriz), además del uso de técnicas instrumentales muy sensibles. La espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) es una de las técnicas más ampliamente utilizadas para la determinación de cadmio y de plomo en materiales biológicos, sin embargo, la determinación directa y simultánea de metales traza en orina por ETAAS presenta ciertos inconvenientes, incluso aunque se empleen correctores de fondo sofisticados y técnicas de modificación de matriz [3,4]. En general, para minimizar los efectos químicos y la absorción no selectiva se emplea la estrategia de diluir las muestras de orina (en un factor de 2:1–5) [5], sin embargo, en algunos casos este enfoque no es suficiente para superar todos los problemas asociados a las mediciones en orina. Como consecuencia, puede ser necesario eliminar la matriz de la muestra con un pretratamiento de digestión ácida o usando diferentes sistemas de extracción que permitan la preconcentración/separación de los analitos [6]. La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica idónea para la preconcentración de cantidades traza de analito en diferentes medios, debido a esto, en la actualidad la búsqueda de nuevos procedimientos usando diferentes adsorbentes de SPE y el desarrollo de técnicas avanzadas de extracción dispersiva y micro-extracción [7], son áreas activas de investigación en Química Analítica. Los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) son un excelente adsorbente para su

uso en sistemas de preconcentración en fase sólida (en las cuales los nanotubos están generalmente dispuestos en microcolumnas [8] o, en algunos casos, como discos [9]), debido a su gran área superficial, su alta capacidad de adsorción y por permitir una separación eficiente de la sustancia adsorbida en el proceso de desorción [10-12]. Sin embargo, estas técnicas de inmovilización pueden producir sobrepresiones en el sistema (cuando la muestra es compleja), bajas eficiencias de extracción y largos tiempos de tratamiento (cuando el volumen de muestra es grande). Para superar estos problemas, se ha desarrollado y aplicado la extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) [13], en estos procedimientos el sólido adsorbente (en el rango de μg a mg) se dispersa en la disolución a analizar. De esta manera se consigue una reducción considerable en el tiempo requerido para el pretratamiento de la muestra y se favorece una interacción rápida entre los analitos y el adsorbente. Una vez que los analitos han sido retenidos en el sólido adsorbente pueden ser eluidos, desorbidos térmicamente o ser determinados directamente como una suspensión empleando la técnica espectroscópica adecuada [14]. El análisis directo de muestras sólidas en suspensiones o *sampling slurry* (SS) evita los inconvenientes asociados a trabajar con los nanotubos empaquetados en una columna, así como los asociados a la elución, al poderse introducir con éxito en el atomizador ETAAS la suspensión del adsorbente (finamente pulverizado). La determinación en *slurries* combina las ventajas del muestreo de sólidos (tiempos reducidos de preparación de muestra, inapreciable contaminación de la muestra, minimiza las pérdidas del analito si es retenido en residuos insolubles) y del muestreo de líquidos (gestión automática de las muestras por un dispensador automático, flexibilidad en la preparación del *slurry*). Otra ventaja de la técnica de SS es su compatibilidad con calibraciones con patrones acuosos [15]. Por el contrario, la mayor desventaja de la determinación en *slurries* es la necesidad de triturar la muestra, porque son necesarias generalmente partículas con un diámetro inferior a $50\ \mu\text{m}$, sin embargo este problema se obvia al utilizar los MWCNTs como adsorbente debido a sus características intrínsecas. El factor más crítico en la SS es que la mezcla debe permanecer estable durante el proceso de medida siendo necesario, por esta razón, recurrir a procedimientos de homogeneización y estabilización (como por ejemplo, emplear agentes estabilizantes y agitación) [16].

En el trabajo aquí descrito se ha desarrollado un nuevo método para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina. El método implica el uso de DSPE con nanotubos de carbono de pared múltiple como adsorbente en combinación con la determinación en el *slurry*

mediante ETAAS. Los agregados MWCNTs/analito aislados se trataron con ácido nítrico para formar un *slurry* y los dos metales se determinaron directamente mediante la inyección de la suspensión en el atomizador de ETAAS. Desde nuestro conocimiento, éste es el primer estudio en que se han utilizado MWCNTs en un procedimiento de DSPE–SS–ETAAS para determinar Cd y Pb en orina. El método propuesto está libre de interferencias de matriz y tiene una sensibilidad y eficacia de extracción adecuadas, además, evita las etapas de adsorción y de elución en columna, necesarias en los procedimientos habituales empleados en SPE, que son etapas lentas y tediosas.

3.4.2. Parte experimental

3.4.2.1. Aparatos

El estudio se llevó a cabo empleando un espectrómetro de absorción atómica, Varian-SpectrAA-600 (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA), con corrector de fondo Zeeman y equipado con un atomizador electrotérmico, Varian GTA-100, unido a un dispensador automático. El Cd y Pb fueron evaluados empleando lámparas de cátodo hueco con una intensidad de corriente de 10 mA y operando a 238.8 nm y 283.3 nm, respectivamente. El ancho de banda utilizado fue de 0.5 nm para el Cd y 1.0 nm para el Pb. Como gas inerte se empleó argón a 300 mL min⁻¹ y se utilizaron tubos de grafito pirolítico con plataforma Omega (Schunk Ibérica S.A., Madrid, Spain). Las medidas de pH de las muestras se realizaron con un medidor de pH HI221 (Hanna Instruments S.L., Éibar, España) y para preparar la suspensión de MWCNTs y llevar a cabo el procedimiento de DSPE–SS se utilizaron un baño de ultrasonidos Ultrasons (P-Selecta, Barcelona, España) y una centrífuga Hettich EBA 21 (Tuttlingen, Alemania).

3.4.2.2. Reactivos

Las disoluciones patrón de cadmio y plomo (1.0 g L⁻¹) fueron obtenidas de Panreac (Barcelona, España) y diluidas según fuese necesario para obtener las disoluciones patrón de trabajo. La disolución de modificador permanente de tungsteno (1.0 g L⁻¹) se preparó disolviendo 179.4 mg de Na₂WO₄·2H₂O (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos) en agua ultrapura, seguido por una dilución hasta 25 mL. Los MWCNTs no tratados (pureza > 95 %,

20-30 nm diámetro externo y longitud $\sim 30 \mu\text{m}$) fueron suministrados por Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd. (Chengdu, China). Los valores de pH de las disoluciones de la muestra fueron ajustados con disoluciones de ácido nítrico e hidróxido de sodio obtenidas a partir de HNO_3 ultrapuro (Merck, Darmstadt, Alemania) y NaOH (Panreac). Todo el material de laboratorio se lavó con ácido nítrico al 10 % (v/v) durante 24 horas, se enjuagó con abundante agua ultrapura y se secó antes de usarlo. La disolución de limpieza empleada para lavar el capilar de muestreo contenía HNO_3 0.7 % (m/v) y Tritón X-100 (Sigma) 0.2 % (v/v).

3.4.2.3. Programa estadístico

Los diseños de experimentos así como los gráficos de Pareto y las gráficas de superficies de respuesta, empleados para la optimización del método, se realizaron empleando el programa Statgraphics Centurion XVI versión 16.1.15 (Rockville, MD, USA).

3.4.2.4. Muestras de orina y materiales de referencia certificados

Las diferentes muestras de orina de personas sanas, sin historial de exposición al Cd y Pb, se recogieron en recipientes de polipropileno lavados con ácido nítrico al 10 % (v/v). Las muestras se trataron de acuerdo con el procedimiento descrito en la Sección 3.4.2.6 y cuando el análisis no se realizó de forma inmediata se almacenaron a 4°C en la oscuridad. Además, se emplearon los siguientes materiales de referencia certificados (CRMs): Material Patrón de Referencia SRM-1577c (hígado de bovino) de NIST (Gaithersburg, MD, USA) y DORM-3 (proteína de pescado) del National Research Council Canada (Ottawa, Canada).

3.4.2.5. Preparación de los MWCNTs

En base a nuestras experiencias anteriores y a los datos de la bibliografía [17], los MWCNTs se oxidaron con una mezcla de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KMnO}_4$ usando un procedimiento asistido por microondas, que ya fue descrito en detalle en una publicación anterior [18]. Se preparó una suspensión de los MWCNTs oxidados en agua ultrapura (10.5 mg mL^{-1}) agitando los nanotubos de carbono en un baño de ultrasonidos durante 6 minutos (t_1).

3.4.2.6. Procedimiento analítico DSPE–SS–ETAAS

Cada muestra de orina se trató, según fue necesario, con disoluciones de HNO_3 o NaOH , para obtener un pH de 8 y después se diluyó al 75 % (v/v). Cada disolución de orina así preparada (1 mL) se mezcló con 400 μL de una dispersión de MWCNTs (10.5 mg mL^{-1} de nanotubos) preparada como se indicó en la Sección 3.4.2.5. La disolución resultante se mezcló y se homogeneizó en un baño de ultrasonidos durante 6 minutos (t_2), con el fin de lograr la completa adsorción de los iones del analito en los MWCNTs, y a continuación, esta disolución se centrifugó a 8500 rpm durante 15 min con el fin de lograr la separación completa de las fases. Durante la centrifugación, los MWCNTs se agregaron y en consecuencia se depositaron en el fondo de los tubos de centrífuga cónicos, pudiendo separarse el sobrenadante, que fue desechado. Con el fin de preparar el *slurry* se añadieron 0.5 mL de HNO_3 1 M para diluir y acidificar los MWCNTs, seguidamente, para lograr la homogeneización y dispersión de los mismos, la mezcla se sometió a ultrasonidos durante 6 min (t_3) inmediatamente antes de la medición. Cada muestra de *slurry* (20 μL) fue analizada mediante ETAAS bajo las condiciones óptimas para la determinación de Cd y Pb, indicadas en la Tabla 23. El procedimiento analítico aquí descrito se representa esquemáticamente en la Figura 65.

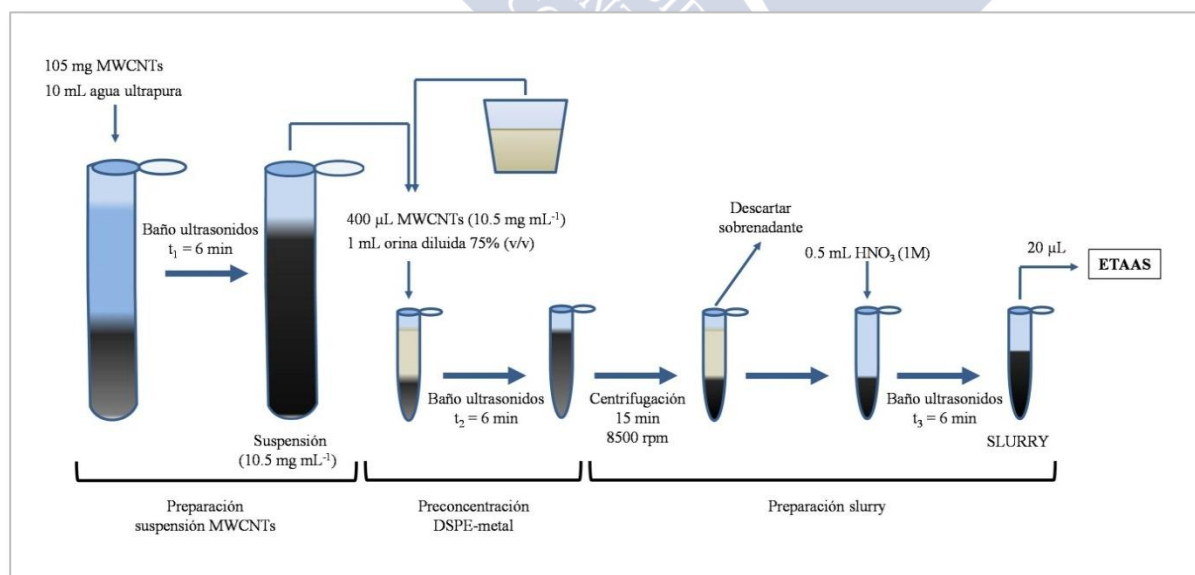


Figura 65. Representación esquemática del procedimiento analítico empleado para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina.

3.4.3. Resultados y discusión

El método analítico mediante DSPE-SS-ETAAS se optimizó en tres etapas: (i) optimización de las condiciones de medida con ETAAS; (ii) cribado y optimización de los factores que influyen en la preconcentración de los metales en los MWCNTs durante la DSPE y en la preparación de los *slurries* y (iii) optimización del volumen de muestra del *slurry*.

3.4.3.1. Optimización de las condiciones de ETAAS

El cadmio y el plomo son elementos volátiles que pueden perderse en el proceso de atomización del sistema ETAAS (en ausencia de modificador) a temperaturas por encima de 300 y 500 °C, respectivamente. Por lo tanto, y con el fin de evitar pérdidas de los analitos, el uso de un modificador de matriz en el análisis de muestras de orina por ETAAS es un prerrequisito para aumentar la estabilidad térmica de los analitos y para minimizar el efecto de la matriz y la señal de fondo. En este trabajo se ha utilizado el tungsteno como modificador químico permanente para estabilizar el Cd y el Pb de las suspensiones de los nanotubos de carbono. El tratamiento de la superficie de grafito se llevó a cabo añadiendo en la plataforma alícuotas de una disolución de modificador de tungsteno de 1.0 g L⁻¹ [15], que recubrió homogéneamente la plataforma de grafito con una capa del modificador permanente.

Mediante un diseño Plackett-Burman (PB) [19], realizado en 14 experimentos aleatorios (incluidos dos puntos centrales), se llevó a cabo un análisis preliminar de la influencia de siete factores experimentales en la determinación por ETAAS: temperatura de secado, tiempos de rampa y permanencia; temperatura de mineralización, tiempos de rampa y permanencia; y

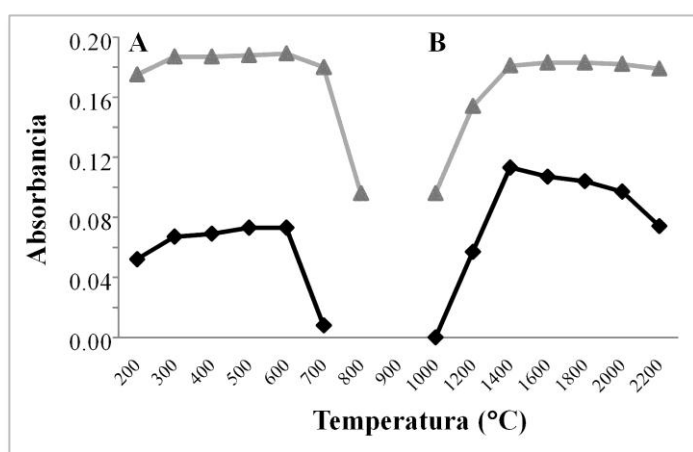


Figura 66. Efecto de las temperaturas de mineralización A) y atomización B) en la señal analítica de Cd (▲) y Pb(◆).
[Cd] = 0.12 µg L⁻¹; [Pb] = 5 µg L⁻¹.

temperatura de atomización. Las variables señaladas como significativas en el diseño PB fueron la temperatura de mineralización para el Pb y las temperaturas de mineralización y de atomización para el Cd. Estas variables fueron optimizadas mediante el estudio de las curvas de mineralización y atomización de cada analito por separado. Como se puede ver en la Figura 66, las temperaturas óptimas de mineralización fueron 700 °C y 600 °C para Pb y Cd, respectivamente, y las temperaturas de atomización óptimas fueron 1600 °C y 1650 °C, respectivamente. Para las restantes variables no significativas (temperaturas de secado, tiempos de rampa y permanencia), los valores empleados fueron los valores óptimos proporcionados por el diseño de PB previo. En la Tabla 23 se resumen las condiciones óptimas a emplear en la determinación mediante ETAAS para la determinación de los dos metales.

Tabla 23. Programa de calentamiento del horno para la determinación de cadmio y plomo por ETAAS.

Etapa	Temperatura (°C)		Rampa (s)		Permanencia (s)	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Secado	120	110	20	6	16	20
Mineralización	600	600	20	20	5	5
Atomización ^a	1600	1650	1	1	3	3
Limpieza	2400	2400	1	1	2	2
Enfriamiento	40	40	10	40	0	0

^a Flujo de argón detenido

3.4.3.2. Cribado de los factores que influyen en la preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE y en la preparación del slurry

Las variables que influyen en el proceso de preconcentración se estudiaron en dos etapas. En primer lugar, se consideraron los parámetros que influyen en la preconcentración de los metales en los nanotubos para su extracción por DSPE y en segundo lugar se evaluaron los parámetros que influyen en la preparación del *slurry*.

3.4.3.2.1. Preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE

Se estudiaron las variables que influyen en la etapa de adsorción del cadmio y plomo presentes en las muestras de orina en los nanotubos de carbono. Los MWCNTs oxidados contienen grupos hidroxilo, carbonilo y ácidos carboxílicos en su superficie cuya presencia

aumenta la solubilidad del material en agua así como su capacidad de adsorber una gran variedad de iones metálicos al pH adecuado [20]. En este trabajo se llevaron a cabo una serie de ensayos con diferentes cantidades de MWCNTs en suspensión ($4\text{--}10\text{ mg mL}^{-1}$) con el objetivo de obtener la suspensión acuosa de MWCNTs más adecuada para nuestro propósito. También se estudió el tiempo de dispersión en el baño de ultrasonidos (t_1 , rango de 2 a 10 min) necesario para conseguir la máxima homogeneización de esta suspensión. La orina es una muestra compleja, con altas concentraciones de sales y, en consecuencia, su dilución podría afectar al proceso de adsorción, por ello se estudió la dilución de las muestras de orina entre el 10 y el 90 %. Además es evidente que el pH de la disolución de muestra tendrá un efecto sobre la estructura de los MWCNTs oxidados y el grado de ionización y especiación de los iones adsorbidos. Por ello se estudió el pH en el intervalo de 3.0 a 9.0. Finalmente, el tiempo de contacto entre el adsorbente y el analito es un factor que también debe ser considerado. Una vez que la muestra y los MWCNTs estuvieron en contacto, se mezclaron y agitaron empleando un agitador vortex y un baño de ultrasonidos, los tiempos de mezclado y agitación también se estudiaron en este caso para tiempos entre 5 y 105 s y 5–35 min respectivamente. Todas estas variables señaladas: concentración de MWCNT, tiempo de dispersión en el ultrasonidos (t_1), dilución de la muestra, pH, agitación con vortex y tiempo de contacto en el baño de ultrasonidos (t_2) se estudiaron mediante un diseño PB en 16 experimentos aleatorios (incluyendo cuatro puntos centrales). Las respuestas experimentales analizadas fueron las señales obtenidas para el Cd y el Pb en el *slurry* y en el sobrenadante, ya que con las condiciones óptimas se deberían obtener las máximas señales en los *slurries* y las mínimas señales en los sobrenadantes.

Como puede verse en el gráfico de Pareto resultante (Figura 67) el pH de la disolución de muestra afecta significativamente, provocando un aumento en la respuesta del Cd del *slurry* y provocando un efecto negativo en las respuestas de los sobrenadantes para el Cd y el Pb. La optimización de este factor, junto con otras variables significativas, usando un diseño experimental más sofisticado, se describe en la sección siguiente.

Se comprobó que los otros factores evaluados no tenían un efecto significativo sobre las señales analíticas en los rangos estudiados, por lo que se eligieron como condiciones óptimas las proporcionadas por el diseño PB. Así, la relación masa/volumen óptima fue 10 mg de MWCNTs por mL de agua; para asegurar la correcta preparación de la suspensión del

adsorbente, la disolución debe estar sometida a ultrasonidos (180 W) durante al menos 6 min (t_1); la dilución óptima de la muestra de orina fue del 90 % (v/v); se encontró que era innecesaria la agitación vortex; y finalmente, con el fin de obtener un buen contacto entre el analito y el adsorbente, se estableció un tiempo óptimo de ultrasonidos de 6 minutos (t_2). Los resultados sugieren que es necesaria una alta concentración de nanotubos, tal vez porque los analitos y otros iones presentes en la muestra podrían competir por unirse a estos. Sin embargo, el tiempo de dispersión en el ultrasonidos (t_2) no tuvo un efecto significativo en la determinación de los analitos para el rango de trabajo estudiado. Esto puede ser explicado en base a la gran superficie de contacto entre los MWCNTs dispersos y la muestra, que proporcionará una rápida adsorción de los iones metálicos por los grupos funcionales que contienen oxígeno en la superficie de los nanotubos.

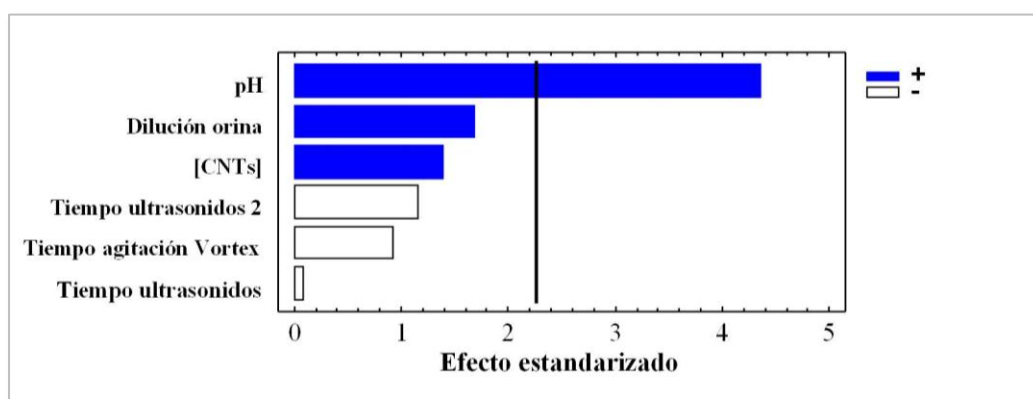


Figura 67. Gráfico Pareto obtenido utilizando un diseño experimental Plackett-Burman (16 experimentos) para las variables que influyen en la absorbancia del Cd presente en el *slurry*.

3.4.3.2.2. Preparación del *slurry*

También se estudiaron los factores que tienen influencia en la formación del *slurry*; para ello se consideraron las variables implicadas en la separación de las fases sólida y líquida, tales como tiempo y velocidad de centrifugación, así como aquellas relacionadas con la desorción de los analitos (volumen y concentración de HNO_3 , adición de Triton X-100 y tiempo en el baño de ultrasonidos, t_3). El procedimiento estándar para separar grandes agregados es la centrifugación aunque habitualmente deja nanotubos individuales o pequeños agregados en el sobrenadante. Se investigaron tiempos y velocidades de centrifugación en el rango de 5-20 minutos y 7000-14000 rpm. Después de la centrifugación el sobrenadante se descartó y los MWCNTs se dispersaron en una disolución acuosa de ácido nítrico. El

volumen y la concentración del HNO_3 se estudiaron en los intervalos de 0-1 mL y 0.5-1.5 M respectivamente. Para facilitar la dispersión y el manejo de los nanotubos se añadieron además diferentes concentraciones (1-2 % p/v) y volúmenes (0-1 mL) del surfactante Triton X-100. Además, para la lograr la dispersión y homogeneización del *slurry*, se optimizó el tiempo en el baño de ultrasonidos (t_3) en el rango 0-10 minutos.

Todos los factores citados se estudiaron empleando un diseño de PB con doce experimentos aleatorios. Con este diseño se comprobó que el volumen de HNO_3 tiene una influencia significativa y positiva en las señales del Cd y Pb de los *slurries* (Figura 68). Este hecho es debido a que los iones metálicos son eluidos de forma favorable de los nanotubos en un medio ácido. Además hay que indicar que el uso de HNO_3 es ventajoso en las medidas por ETAAS porque actúa como un modificador químico que previene los efectos de ciertas interferencias durante la etapa de mineralización [21,22]. En la siguiente sección se describe la optimización de este factor usando un diseño experimental más complejo junto con la optimización de otros factores importantes, indicados en la Sección 3.4.3.2.1.

La adición del surfactante Triton X-100 tuvo un efecto negativo sobre la señal al dar lugar a una alta absorción de fondo [23], como consecuencia, el surfactante no se utilizó en las posteriores mediciones. Los valores óptimos seleccionados para las restantes variables fueron los proporcionados por el diseño PB. La velocidad y el tiempo de centrifugación fueron 15 min y 8500 rpm,

respectivamente, y el tiempo en el baño de ultrasonidos (t_3) fue de 6 min. Empleando las condiciones establecidas como óptimas, los MWCNTs presentaban un grado de agregación adecuado tras centrifugar las muestras, mientras que si se usaban velocidades y tiempos de centrifugación mayores, los MWCNTs se compactaban de forma significativa en la parte

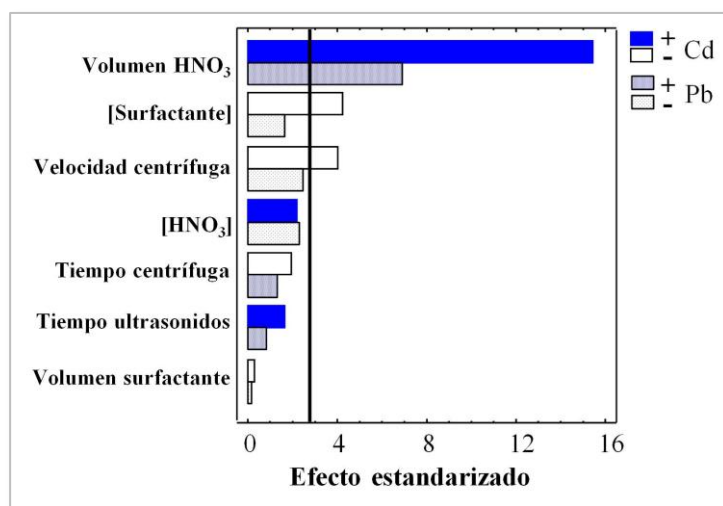


Figura 68. Gráfico Pareto obtenido para las variables que influyen en la absorción del Cd y Pb de los *slurries*.

inferior del tubo de centrífuga, lo que provocaba complicaciones en la etapa posterior de formación del *slurry*.

3.4.3.3. Optimización de los factores que influyen en la preconcentración de los metales en los MWCNTs por DSPE y en la preparación del *slurry*

El diseño de experimentos Plackett-Burman es un método de cribado eficiente para identificar los factores que influyen en la señal analítica, sin embargo, el mayor inconveniente de este tipo de diseños es su incapacidad para evaluar el efecto de las interacciones. Por ello y como los factores significativos identificados en la Sección 3.4.3.2 (pH y volumen de HNO_3) están interrelacionados y deben por tanto, evaluarse conjuntamente (en lugar de individualmente) junto con otras variables relacionadas tales como la concentración de HNO_3 . Se aplicó un diseño más sofisticado a tres niveles, en concreto, un diseño composicional central 2^3 + estrella, en 16 experimentos aleatorios con el fin de estudiar los efectos de los tres factores considerados y sus posibles interacciones. Los experimentos se realizaron empleando 1 mL de muestra de orina diluida y adicionada con $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd y $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. La optimización se realizó midiendo las señales de absorbancia del cadmio y el plomo en los *slurries* y en el sobrenadante, y se evaluó como respuesta la recuperación analítica de ambos metales. Los resultados obtenidos muestran que el pH tiene un efecto positivo sobre las señales analíticas para los *slurries* de Cd y Pb, pero un efecto negativo sobre las señales del sobrenadante, así el pH óptimo establecido está en el rango 8.2-8.9. A estos valores de pH se obtiene una alta recuperación para ambos analitos, probablemente debida a la precipitación de sus hidróxidos metálicos que son capturados en los microporos de los nanotubos [24]. Hay que indicar que el pH óptimo señalado fue superior al obtenido en otros procedimientos de SPE que se llevaron a cabo con MWCNTs empaquetados en columna, pero está claro que en estos casos debe utilizarse un pH menor con el fin de evitar la sobrepresión en la columna causada precisamente por la precipitación de los hidróxidos metálicos. En este trabajo, la utilización del procedimiento DSPE-SS permitió utilizar un valor de pH más alto sin problemas de obstrucción. Los volúmenes óptimos de ácido nítrico necesarios para lograr la extracción cuantitativa de los analitos adsorbidos en los MWCNTs fueron de 0.9 mL para Cd y 0.6 mL para el Pb. El aumento en la concentración de HNO_3 también condujo a un aumento en las recuperaciones de las suspensiones de Cd y Pb hasta un máximo de 0.9 M, que fue considerado como el valor óptimo.

Cuando las condiciones óptimas están ubicadas en diferentes regiones para Cd y Pb es difícil seleccionar los valores apropiados que satisfagan simultáneamente las respuestas de cada uno de los analitos en cuestión. En estos casos, el método de toma de decisiones multicriterio basado en la función de deseabilidad de Derringer (DDF) es la metodología más ampliamente utilizada para optimizar los procedimientos analíticos. En la bibliografía [25,26] se proporciona una descripción del fundamento de la DDF. En este trabajo se aplicó la DDF con el fin de identificar las mejores condiciones para lograr los mejores resultados de Cd y Pb simultáneamente. Las propiedades medidas para cada respuesta prevista se transformaron en una función de deseabilidad adimensional d , con valores que oscilan entre 0 (para una respuesta totalmente indeseable) y 1 (para un resultado óptimo). El estudio de dicha función permitió establecer que los valores que produjeron la mejor respuesta para las señales de Cd y Pb del *slurry* y la mínima respuesta para las señales del sobrenadante ($d = 1$) fueron pH 8.0, concentración de HNO_3 1.0 M y volumen de HNO_3 0.5 mL (Figura 69). En estas condiciones óptimas establecidas, la recuperación del Pb fue casi del 100 %, pero en el caso del Cd se logró una recuperación de sólo el 90 %. Como consecuencia, se estudiaron en detalle otras variables que podrían influir en la adsorción de Cd. La concentración de nanotubos en la suspensión y la dilución de la orina se evaluaron mediante un diseño factorial 3^2 con 3 puntos estrella en 12 experimentos realizados aleatoriamente.

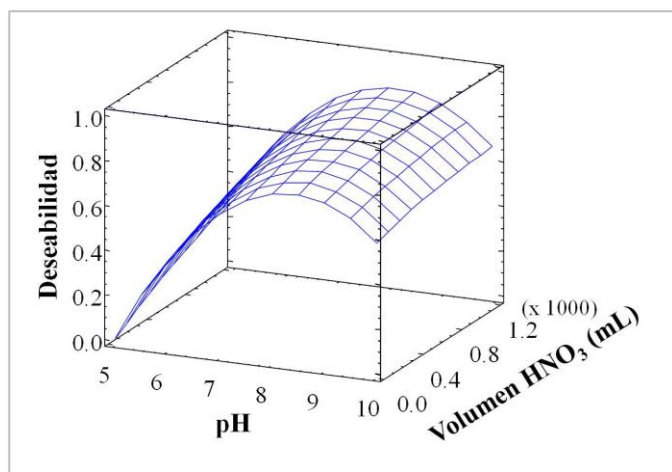


Figura 69. Superficie de Derringer desarrollada para la optimización conjunta de Cd y Pb en relación al pH y al volumen de HNO_3 .

El diagrama de Pareto obtenido mediante este diseño, demostró que la concentración de MWCNTs y la dilución de la orina no eran factores con una influencia significativa en los niveles ensayados. Sin embargo, la interacción de estos dos parámetros si fue significativa para la señal de Cd. La superficie de respuesta obtenida (Figura 70) mostró que

la concentración de MWCNTs y la dilución de la orina tenían un efecto positivo sobre la respuesta de Cd y los valores óptimos establecidos fueron 10.5 mg mL^{-1} y 75 % de dilución, respectivamente. Estos dos valores además coinciden con la mínima señal de Cd en el sobrenadante. Teniendo en cuenta los procedimientos de optimización llevados a cabo, se realizaron las mediciones según los valores óptimos establecidos en ellos (ver Sección 3.4.2.6).

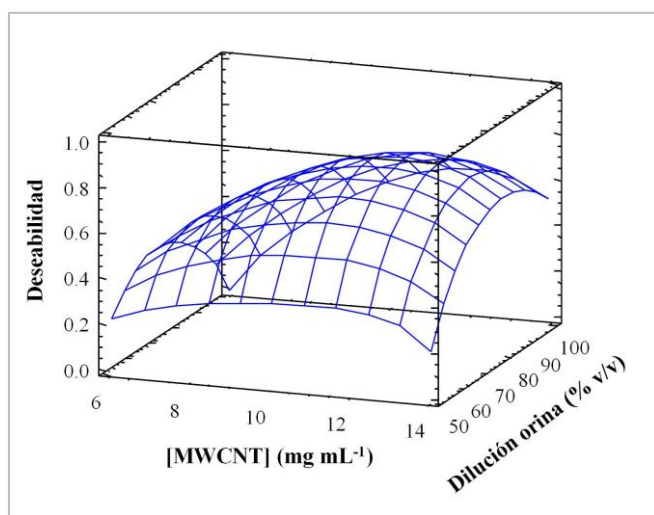


Figura 70. Superficie de respuesta tridimensional obtenida para la función de deseabilidad de Derringer desarrollada para la optimización conjunta de Cd y Pb con respecto a la concentración de MWCNTs v la dilución de la orina.

3.4.3.4. Optimización del volumen del slurry

Una vez optimizadas las condiciones de la DSPE y del SS, el siguiente paso implicó un estudio del volumen de *slurry* final (en el rango 0.25-1.00 mL) con el objetivo de explorar la posibilidad de preconcentrar la muestra. Se encontró que los volúmenes de 0.5 a 1.0 mL producían unos buenos resultados de recuperación ($\approx 99.0 \%$), tanto para el cadmio como para el plomo, mientras que el uso de volúmenes menores de 0.5 mL lleva a disminuciones relevantes en la recuperación y la reproducibilidad de los resultados ($\text{RSD} > 7 \%$, $n = 10$). Este comportamiento puede ser explicado de la siguiente manera: (i) el aumento de la concentración del *slurry* hace más difícil dosificar y manejar correctamente la muestra, y (ii) el uso de un volumen muy bajo de *slurry* conduce a la introducción de una mayor concentración de materia orgánica en el tubo de grafito que, como indican otros autores [27], causa un marcado deterioro de la relación señal-ruido. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se seleccionó como volumen final óptimo de *slurry* 0.5 mL, porque permitía la preconcentración más alta de los analitos mientras que impedía una pérdida de reproducibilidad y una disminución de la recuperación.

3.4.3.5. Características analíticas

El método desarrollado en este estudio mostró respuestas lineales para las muestras de orina bajo las condiciones optimizadas y siguiendo el procedimiento analítico descrito en la Sección 3.4.2.6, en el rango de LOD-5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd y LOD-120 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb. Estos resultados demuestran que el método es aplicable para los niveles normalmente presentes en la orina humana. Con el fin de evaluar si las medidas de Cd y Pb en la orina pueden realizarse directamente en calibración acuosa, se prepararon las curvas de calibrado y de adiciones estándar y se aplicó un test Anova para comparar las pendientes de las dos curvas. No se detectaron diferencias significativas entre las pendientes de las curvas de calibrado y de adición estándar a un nivel de confianza del 95 % y como consecuencia, se puede afirmar que los *slurries* obtenidos por DSPE pueden leerse directamente en la curva de calibración, evitando así la preparación laboriosa y lenta de las curvas de adición y el pretratamiento de digestión ácida de las muestras de orina. Las ecuaciones de calibración obtenidas para Cd y Pb empleando el método DSPE-SS-ETAAS desarrollado fueron las siguientes:

$$\text{Abs} = (0.334 \pm 0.005) [\text{Cd } (\mu\text{g L}^{-1})] + (0.004 \pm 0.004); \quad r = 0.999$$

$$\text{Abs} = (8.1 \times 10^{-3} \pm 1.1 \times 10^{-4}) [\text{Pb } (\mu\text{g L}^{-1})] + (2.2 \times 10^{-3} \pm 2.6 \times 10^{-3}); \quad r = 0.999$$

Los resultados obtenidos evidencian que la matriz de orina se elimina en el proceso de preconcentración por DSPE y que los analitos fueron retenidos en los MWCNTs y separados de los componentes no deseados de la matriz, que no son retenidos en los nanotubos de carbono. Este hecho fue confirmado mediante la observación de los perfiles del pico de fondo y del pico para Cd y Pb obtenidos midiendo el *slurry* después de la preconcentración por DSPE. Como ejemplo, en la Figura 71 se muestran, las señales de analito y de fondo para una muestra de orina conteniendo

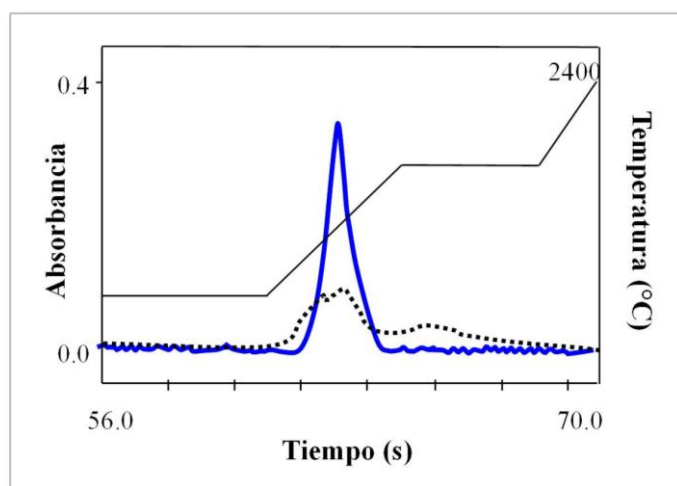


Figura 71. Picos de cadmio y de fondo para el *slurry* de una muestra de orina preparada como se indica en la Sección 3.4.2.6. [Cd] = 0.25 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pico de cadmio (—). Pico del fondo (---).

0.25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. En ella puede verse que el pico tiene una buena forma con una baja señal de fondo. En el caso del Pb se observó un perfil de pico similar. Esta situación es contraria a la observada en las muestras de orina sin tratamiento previo de DSPE, en estos casos, la presencia de señales de fondo de una magnitud considerable impide la correcta determinación de Cd y Pb.

Para demostrar que se puede mejorar la sensibilidad de la técnica ETAAS incorporando el procedimiento de preconcentración por DSPE con MWCNTs se calculó el factor de preconcentración (PF). Este parámetro se determinó como el cociente entre las pendientes de las curvas analíticas obtenidas con y sin la etapa de preconcentración. Los valores de PF obtenidos fueron 3.9 y 5.4 para Cd y Pb respectivamente. Por lo tanto, la etapa de preconcentración por DSPE desarrollada en este trabajo produjo un aumento de la sensibilidad a pesar del pequeño volumen de muestra empleado.

Los valores de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) (calculados según [28]) fueron 9.7 y 32.3 ng L^{-1} para Cd, y 0.13 y 0.43 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, respectivamente. En ambos casos los límites de detección fueron adecuados para la medición de estos elementos traza a los niveles presentes en la orina humana. En la Tabla 24 se presentan los valores de los límites de detección así como otras características analíticas del presente método comparadas con los valores para diversos procedimientos de pretratamiento y preconcentración con determinación por ETAAS que aparecen en la bibliografía.

El valor de LOD obtenido para el Cd es comparable, o mejor, que el proporcionado por otros métodos que utilizan diferentes procedimientos de extracción y diferentes pretratamientos de muestra (como procesos de digestión de la orina) [2,4,29,30]. Otros métodos proporcionan LODs ligeramente mejores [3,31] pero todos ellos requieren una combinación de dos etapas: un procedimiento de digestión de la orina seguido por una etapa de preconcentración.

Tabla 24. Comparación de métodos ETASS publicados para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina con el método propuesto en este trabajo.

Técnica	Dilución muestra	Procedimientos preconcentración ^a	Volumen inyección (μL)	LOD (μg L ⁻¹)		Exactitud (%)		RSD (%)		Ref.
				Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	
ETAAS	-	CPE:DDTP	20	0.002	0.04	98-110	96-109	-	-	[34]
THFA-ETAAS	1:5-1:10	Fibra de carbono- colector tungsteno	20	0.018	0.2	96-110	74-100	≤2	≤2.5	[4]
EC-THGA SIMAAS	1:4	-	12	0.03	0.57	-	-	0.8	0.7	[2]
ETAAS	-	SPE: Ag-nanoparticulas+morina	-	-	0.068	-	97-101	-	<4.1	[33]
FI-THGA SIMAAS	Muestra digerida	SPE: resina Muromac A-1	213	0.002	0.0045	84-90	91-97	1.6	3.8	[3]
THGA-ETAAS	1:9	USLE	-	-	0.7	-	-	-	5.7	[32]
FI-ETAAS	1:2	SPE:DETATA	10	0.010	0.2	103	97	-	-	[5]
ETAAS	1:2	-	-	0.03	0.83	97.8-103.6	99.1-101.8	3.5	3.0	[30]
ETAAS	Muestra digerida	CPE:5-Br-PADAP	30	0.008	-	-	-	-	-	[29]
ETAAS SIA	Muestra digerida	Material de empaquetamiento hidrofóbico	20	0.005	-	95-103	-	4.3	-	[31]
ETAAS	3:10	SPE usando CNTs	20	0.010	-	97.4-100	-	3.4-9.8	-	[18]
ETAAS	2:5	SPE usando CNTs	20	-	0.08	-	96.8-105.6	-	3.4-8.2	[35]
ETAAS	7.5:10	DSPE-SS usando CNTs	20	0.0097	0.13	96-102	97-101	1.4-2.1	2.5-5.9	Prop.

^a 5-Br-PADAP: 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino) fenol. CPE: extracción en el punto de nube. DETATA: copolímero de poliestireno-divinilbenzeno. DDTP: O,O-dietil ditioposfato amónico. EC-THGA: atomizador de grafito tapado en los extremos y calentado transversalmente. FI: inyección en flujo. SIMAAS: espectrometría de absorción atómica electrotérmica simultánea. THFA: filtro atomizador calentado transversalmente. USLE: extracción sólido-líquido asistida por ultrasonidos.

El límite de detección obtenido para el Pb en este trabajo ha sido mejor o similar a los obtenidos en otros métodos de determinación de Pb por ETAAS [2,4,5,30,32–34]. Sólo el método propuesto por Sung y Huang [3] proporciona un LOD claramente mejor (5 ng L^{-1}), pero en este caso se empleó digestión de la muestra y un sofisticado sistema de preconcentración por inyección de flujo en línea fabricado en el propio laboratorio. En estudios anteriores realizados por nuestro grupo de investigación se obtuvieron límites de detección similares a los descritos para el presente método: 10 ng L^{-1} para Cd y $0.08 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb [18,35]; es importante señalar que en estos métodos citados se empleó un paso de extracción en fase sólida en una columna rellena con MWCNTs inmovilizados como adsorbente para preconcentrar y separar los analitos de la matriz de orina, y que en estos casos, cuando la muestra es compleja, se pueden producir sobrepresiones y/o el bloqueo de la columna. Además, el proceso de adsorción y elución es más laborioso y lento. Por lo tanto, el método de DSPE–SS desarrollado en este trabajo es más rápido y menos tedioso que los otros métodos basados en SPE desarrollados anteriormente.

La exactitud del método propuesto se evaluó mediante la realización de estudios de recuperación. Una muestra de orina, preparada como se indica en la Sección 3.4.2.4 y que contenía $0.91 \pm 0.03 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd y $4.97 \pm 0.27 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, fue adicionada con diferentes cantidades de Cd y Pb en los rangos $0.125\text{--}1.0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y $2.5\text{--}20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Las muestras adicionadas se midieron empleando las condiciones descritas en la Sección 3.4.2.6. Y los resultados obtenidos mostraron valores de recuperación en el rango 96–102 % (Tabla 25).

Tabla 25. Exactitud del método propuesto: estudio de recuperación.
Concentración muestra: $[\text{Cd}] = 0.91 \pm 0.03 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{Pb}] = 4.97 \pm 0.27 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Cd añadido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Cd encontrado* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)	Pb añadido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pb encontrado* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
0.00	0.91 ± 0.03	--	0.0	4.97 ± 0.27	--
0.12	1.03 ± 0.02	100	2.5	7.42 ± 0.18	97
0.25	1.15 ± 0.05	96	5.0	10.0 ± 0.61	100
0.50	1.42 ± 0.02	102	10	15.02 ± 0.75	100
0.75	1.65 ± 0.03	99	20	24.91 ± 0.65	99
1.00	1.92 ± 0.04	101	30	35.24 ± 1.68	101

* Media \pm desviación estándar (n=3).

Adicionalmente se midieron en nuestro laboratorio cinco muestras de orina, utilizando el método desarrollado y en un laboratorio externo mediante un método de ICP-MS después de la digestión ácida asistida por microondas de las muestras [36]. Los resultados obtenidos (Tabla 26) demuestran una buena concordancia entre los niveles determinados por los dos métodos y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (a un nivel de confianza del 95 %) entre los resultados al aplicar un test por parejas para las concentraciones medidas. Finalmente, se emplearon dos CRMs descritos en la Sección 3.4.2.4 para comprobar la aplicabilidad del método para otras muestras biológicas. El material certificado de referencia DORM-3 se utilizó para el plomo, con un valor certificado de $0.395 \pm 0.050 \text{ mg kg}^{-1}$, y el valor determinado utilizando el nuevo método fue $0.423 \pm 0.040 \text{ mg kg}^{-1}$. El material de referencia SRM-1577c fue utilizado para el cadmio, con un valor certificado de $97.0 \pm 1.4 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ y el valor determinado fue $96.5 \pm 0.7 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Los resultados son consistentes con las concentraciones conocidas de los dos CRMs analizados.

Tabla 26. Exactitud del método propuesto: Resultados comparativos entre el método propuesto y un método con ICP-MS (después de la digestión de la muestra).

Muestra (n =3)	Cd encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)*		Pb encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)*	
	Método propuesto	ICP-MS	Método propuesto	ICP-MS
1	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01	8.41 ± 1.43	8.40 ± 0.80
2	2.30 ± 0.08	2.28 ± 0.04	7.32 ± 0.72	7.30 ± 0.60
3	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.01	4.70 ± 0.51	4.71 ± 0.26
4	0.54 ± 0.04	0.55 ± 0.02	3.70 ± 0.40	3.70 ± 0.53
5	1.44 ± 0.07	1.40 ± 0.05	11.3 ± 0.80	11.4 ± 0.47

* Media \pm desviación estándar (n=3).

La precisión del método se evaluó como la desviación estándar relativa (RSD) de diez ciclos independientes de tratamiento de muestras de orina enriquecidas con 0.125, 0.25, 0.5, 0.75 y $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd. Los valores obtenidos fueron 2.1, 4.1, 1.4, 1.8 y 2.0 % respectivamente. Para el plomo, los valores de RSD fueron 4.6, 4.3, 5.0, 2.5, 4.8 y 5.9 % para las muestras de orina adicionadas con 2.5, 5, 10, 20, 30 y $40 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, respectivamente.

En el método propuesto sólo se inyectaron en cada análisis $20 \text{ } \mu\text{L}$ del *slurry* con nanotubos de carbono para la determinación por ETAAS, y el resto de los MWCNTs que no se emplearon pudieron ser recuperados. Esta posibilidad reduce al mínimo el uso de sustancias peligrosas de acuerdo con los principios de la química verde. Los MWCNTs fueron

regenerados mediante un tratamiento con ácido nítrico 3 M y su posterior lavado con agua ultrapura hasta pH neutro. Para comprobar si los CNTs regenerados podían reutilizarse en análisis posteriores por DSPE se analizaron cinco muestras de orina por triplicado por el procedimiento analítico descrito en este trabajo empleando tanto MWCNTs nuevos como recuperados. Las concentraciones de cadmio y plomo medidas en las cinco muestras, utilizando los dos tipos de nanotubos de carbono, fueron comparadas empleando un test Anova y no se encontraron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95 %, confirmando así que los MWCNTs pueden ser reutilizados después de un simple proceso de separación y regeneración.

El ciclo completo de preconcentración por DSPE, formación/separación del *slurry* y la determinación por ETAAS requiere aproximadamente 25 min para cada muestra. Sin embargo, puesto que se pueden tratar varias muestras simultáneamente, se podrían procesar 24 muestras por hora con el presente método utilizando el modelo de la centrífuga que se describe en la Sección 3.4.2.1 ya que tiene una capacidad de doce tubos de centrífuga.

3.4.3.6. Análisis de muestras reales de orina

Con el fin de demostrar la aplicabilidad del presente método mediante DSPE–SS–ETAAS, se determinó el contenido de Cd y Pb en ocho muestras de orina de personas sanas sin historial de exposición a estos elementos. Las muestras de orina se recogieron siguiendo las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards [37] y las concentraciones de cadmio y plomo encontradas en ellas estuvieron comprendidas en los rangos de 0.2-2.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cd y 2.8-11.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.

3.4.4. Conclusiones

Se ha desarrollado un procedimiento de extracción en fase sólida dispersiva para la extracción, preconcentración y determinación de cadmio y plomo en muestras de orina humana. El método implica el uso de MWCNTs oxidados como material adsorbente en combinación con la formación de *slurries* y la determinación por ETAAS. Ambos analitos fueron determinados en el *slurry* resultante por ETAAS y se obtuvieron unas características analíticas adecuadas. El novedoso método desarrollado, que se basa en la DSPE–SS–ETAAS, tiene varias ventajas sobre otros métodos publicados para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina. En primer lugar, la eliminación de la matriz de orina en el paso de DSPE permite la medición directa en la curva de calibrado, evitando un pretratamiento de muestra laborioso y largo como el de la digestión ácida. En segundo lugar, se obtuvieron unos LODs apropiados (9.7 ng L^{-1} de Cd y $0.13 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb), lo que permite la determinación de los bajos niveles de Cd y Pb en muestras de orina humana. En tercer lugar, el uso de la DSPE combinada con la formación de *slurries* (en lugar de SPE en columna tradicional) y la inyección directa del *slurry* en el atomizador ETAAS evita las tediosas y lentas etapas de adsorción y elución en columna, aumentando así el rendimiento del método (24 muestras de orina por hora utilizando una centrífuga de doce tubos) en comparación con los procedimientos en columna SPE [18,35]. El método combinado de DSPE–SS–ETAAS empleando MWCNTs como adsorbente, parece ser un enfoque prometedor para la determinación de metales presentes a niveles bajos en muestras complejas.

3.4.5. Referencias

- [1] A.D. Deng, X. Jiang, L. Yang, X. Hou, C. Zheng. Organic solvent-free cloud point extraction-like methodology using aggregation of graphene oxide. *Analytical Chemistry* 86 (2014) 758–765.
- [2] P.R.M. Correia, C.S. Nomura, P.V. Oliveira. Multielement determination of cadmium and lead in urine by simultaneous electrothermal atomic absorption spectrometry with and end-capped graphite tube. *Analytical Sciences* 19 (2003) 1519–1523.
- [3] Y.H. Sung, S.D. Huang. On-line preconcentration system coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of bismuth, cadmium and lead in urine. *Analytica Chimica Acta* 495 (2003) 165–173.
- [4] P. Ngoben, C. Canário, D.A. Katskov, Y. Thomassen. Transverse heated filter atomizer: atomic absorption determination of Pb and Cd in urine. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 762–768.
- [5] L.A. Vasil'eva, I.L. Grinshtein, S. Gucer, B. Izgi. Determination of lead and cadmium in urine by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry* 7 (2008) 649–654.
- [6] Z. Čáňký, P. Rychloský, Z. Petrová, J.P. Matousek. A technique coupling the analyte electrodeposition followed by in situ stripping with electrothermal atomic absorption spectrometry for analysis of samples with high NaCl contents. *Spectrochimica Acta Part B* 62 (2007) 250–257.
- [7] E. Yilmaz, M. Soylak. Ionic liquid-linked dual magnetic microextraction of lead (II) from environmental samples prior to its micro-sampling flame atomic absorption spectrometric determination. *Talanta* 116 (2013) 882–886.
- [8] M. Soylak, O. Ercan. Selective separation and preconcentration of copper (II) in environmental samples by the solid phase extraction on multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials* 168 (2009) 1527–1531.
- [9] M. Soylak, Y.E. Unsal. Chromium and iron determinations in food and herbal plant samples by atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on singlewalled carbon nanotubes (SWCNTs) disk. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 1511–1515.
- [10] T. Hüffer, X.L. Osorio, M.A. Jochmann, B. Schilling, T.C. Schmidt. Multi-walled carbon nanotubes as sorptive material for solventless in-tube microextraction (ITEX2)-a factorial design study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (2013) 8387–8397.
- [11] C. Herrero Latorre, J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente. Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to spectrometric determination of metal species: a review. *Analytica Chimica Acta* 749 (2012) 16–35.
- [12] S.G. Ozcan, N. Satioglu, M. Soylak. Column solid phase extraction of iron (III), copper (II), manganese (II) and lead (II) ions food and water samples on multiwalled carbon nanotubes. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 2401–2406.
- [13] Z. Huang, X. Zheng, W. Lv, M. Wang, Q.H. Yang, F. Kang. Adsorption of lead(II) ions from aqueous solution on low-temperature exfoliated graphene nanosheets. *Langmuir* 27 (2011) 7558–7562.
- [14] K. Kocot, B. Zawisza, E. Margu, I. Queralt, M. Hidalgo, R. Sitko. Dispersive micro solid-phase extraction using multiwalled carbon nanotubes combined with portable total-reflection X-ray fluorescence spectrometry for the determination of trace amounts of Pb and Cd in water samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28 (2013) 736–742.

- [15] E.C. Lima, F. Barbosa Jr., F.J. Krug. Lead determination in slurries of biological materials by ETAAS using a W–Rh permanent modifier. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 369 (2001) 496–501.
- [16] C.S. Nomura, P.V. Oliveira. Microsampling for solid and slurries analytical methods, in: M.A. Zezzi (Ed.). *Trends in Sample Preparation*, Nova Science Publishers Inc., New York, 2006, pp. 1–27.
- [17] C.Y. Kuo, H.Y. Lin. Adsorption of aqueous cadmium (II) onto modified multi-walled carbon nanotubes following microwave/chemical treatment. *Desalination* 249 (2009) 792–796.
- [18] J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, R.M. Peña Crecente, S. García Martín, C. Herrero Latorre. A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETA-AAS determination of Cd in urine. *Talanta* 85 (2011) 2361–2367.
- [19] C. Coscollà, S. Navarro-Olivares, P. Martí, V. Yusà. Application of the experimental design of experiments (DoE) for the determination of organotin compounds in water samples using HS-SPME and GC-MS/MS. *Talanta* 119 (2014) 544–552.
- [20] M. Farbod, S.K. Todavani, A. Kiasat. Surface oxidation and effect of electric field on dispersion and colloids stability of multiwalled carbon nanotubes. *Colloids and Surfaces A* 384 (2011) 685–690.
- [21] J.C. Feo, M.A. Castro, J.M. Lumbreras, B. de Celis, A.J. Aller. Nickel as a chemical modifier for sensitivity enhancement and fast atomization processes in electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cadmium in biological and environmental samples. *Analytical Sciences* 19 (2003) 1631–1636.
- [22] M.A. Castro, A.J. Aller, K. Faulds, D. Littlejohn. Study of the effect of nitric acid and metal-based chemical modifiers on graphite platform surfaces by Raman spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 24 (2009) 1044–1050.
- [23] S. Scaccia, R. Mecozzi. Trace Cd, Co and Pb elements distribution during Sulcis coal pyrolysis: GFAAS determination with slurry sampling technique. *Microchemical Journal* 100 (2012) 48–54.
- [24] A.H. El-Sheikh. Effect of oxidation of activated carbon on its enrichment efficiency of metal ions: comparison with oxidized and non-oxidized multi-walled carbon nanotubes. *Talanta* 75 (2008) 127–134.
- [25] G. Derringer, R. Suich. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology* 12 (1980) 214–219.
- [26] L. Ferey, N. Delaunay, D.N. Rutledge, A. Huertas, Y. Raoul, P. Gareil, J. Vial. Use of response surface methodology to optimize the simultaneous separation of eight polycyclic aromatic hydrocarbons by capillary zone electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* 1302 (2013) 181–190.
- [27] M. Felipe-Sotelo, M.J. Cal Prieto, A. Carlosena, J.M. Andrade, E. Fernández, D. Prada. Multivariate optimization for molybdenum determination in environmental solid samples by slurry extraction-ETAAS. *Analytica Chimica Acta* 553 (2005) 208–213.
- [28] L.A. Currie. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry* 67 (1995) 1699–1723.
- [29] P.R. Aranda, R.A. Gil, S. Moyano, I. De Vito, L.D. Martínez. Cloud point extraction for ultra-trace Cd determination in microwave-digested biological samples by ETAAS. *Talanta* 77 (2008) 663–666.

- [30] P. Olmedo, A. Pla, A.F. Hernández, O. López-Guarnido, L. Rodrigo, F. Gil. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 659 (2010) 60–67.
- [31] M. Miró, S. Jończyk, J. Wang, E.H. Hansen. Exploiting the bead-injection approach in the integrated sequential injection lab-on-valve format using hydrophobic packing materials for on-line matrix removal and preconcentration of trace levels of cadmium in environmental and biological samples via formation of non-charged chelates prior to ETAAS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18 (2003) 89–98.
- [32] D. Guimarães, J.P. Santos, M.L. Carbalho, G. Vale, H.M. Santos, V. Geraldes, I. Rocha, J.L. Capelo. Ultrasonic energy as a tool to overcome some drawbacks in the determination of lead in brain tissue and urine of rats. *Talanta* 86 (2011) 442–446.
- [33] M. Khajeh, E. Sanchooli. Silver nanoparticles as a new solid-phase adsorbent and its application to preconcentration and determination of lead from biological samples. *Biological Trace Element Research* 143 (2011) 1856–1864.
- [34] T.A. Maranhão, E. Martendal, D.L.G. Borges, E. Casarek, B. Welz, A.J. Curtius. Cloud point extraction for the determination of lead and cadmium in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with multivariate optimization using Box–Behnken design. *Spectrochimica Acta Part B* 62 (2007) 1019–1027.
- [35] R.M. Peña Crecente, C. Gutiérrez Lovera, J. Barciela García, J. Álvarez Méndez, S. García Martín, C. Herrero Latorre. Multiwalled. Carbon nanotubes as a sorbent material for the solid phase extraction of lead from urine and subsequent determination by ETAAS. *Spectrochimica Acta Part B* 101 (2014) 15–20.
- [36] J. Nakagawa, Y. Tsuchiya, Y. Yashima, M. Tezuka, Y. Fujimoto. Determination of trace levels of elements in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Health Sciences* 50 (2004) 164–168.
- [37] P.J. Parsons, J.J. Chisolm, H.T. Delves, R. Griffin, E.W. Gunter, W. Slavin, N.V. Stanton, R. Vocke. C40-A: Analytical Procedures for the Determination of Lead in Blood and Urine; Approved Guideline. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA, 2001.

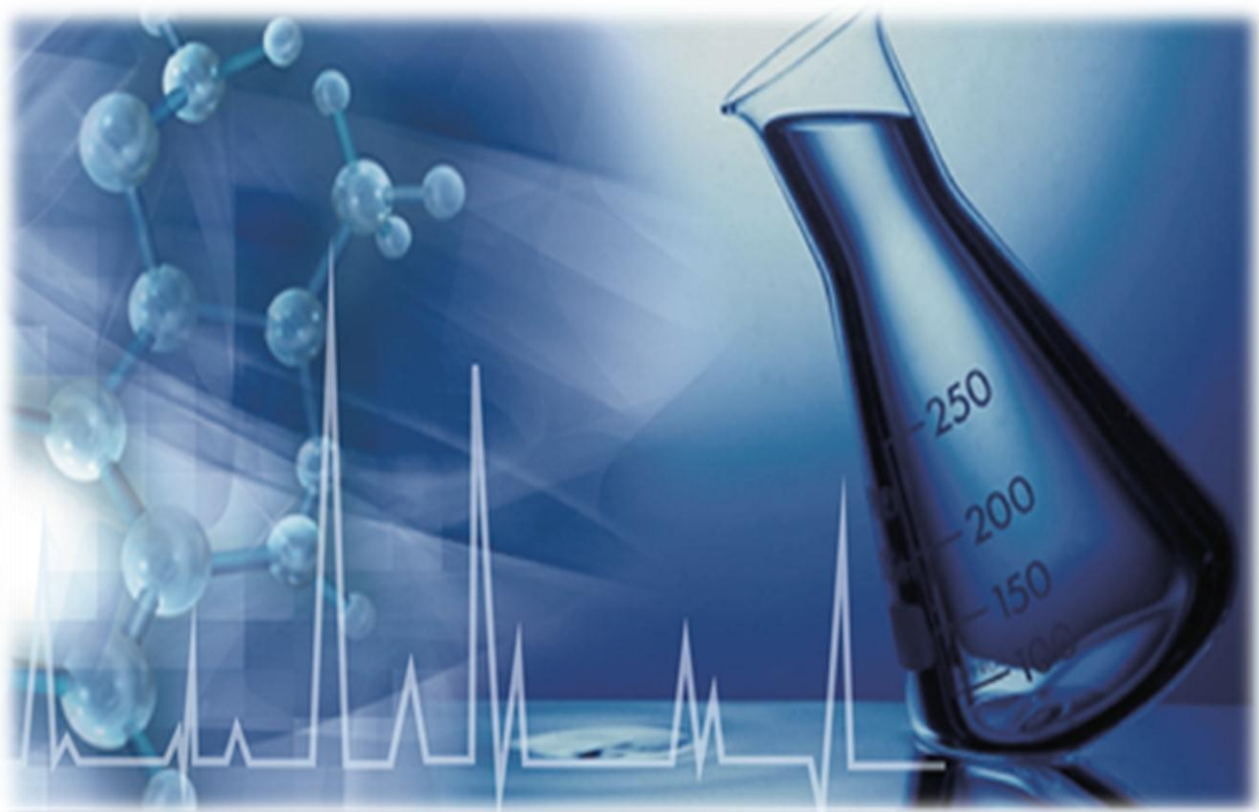
3.4.6. Publicación

A continuación se incluye la publicación correspondiente a este capítulo:

Determination of cadmium and lead in urine samples after dispersive solid–liquid extraction on multiwalled carbon nanotubes by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. J. Álvarez Méndez, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente, C. Herrero Latorre.

Publicado en la revista: **Spectrochimica Acta Part B** 106 (2015) 13–19.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2015.01.008>



4. CONCLUSIONES

4. CONCLUSIONES

En este capítulo se presentan las conclusiones derivadas de la realización del presente trabajo de investigación.

- Se ha realizado un extenso estudio bibliográfico sobre las técnicas de caracterización de los nanotubos de carbono, ya que los procedimientos de síntesis disponibles en la actualidad no aseguran la homogeneidad del producto en relación con su longitud y con su diámetro. Además, la toxicidad de los CNTs para organismos vivos y sistemas medioambientales depende de su morfología. Este estudio se ha concretado en la publicación de una revisión bibliográfica titulada “*Characterization of carbon nanotubes and analytical methods for their determination in environmental and biological samples: A review*”, ***Analytica Chimica Acta* 853 (2015) 77–94**, de la que se concluye que:
 - En las últimas décadas se ha desarrollado un intenso trabajo dirigido al desarrollo de procedimientos simples, eficientes y rápidos para la caracterización de nanotubos de carbono, tanto en fase sólida como en dispersión acuosa. Sin embargo, hasta la fecha, se ha demostrado que es necesario el empleo de diferentes técnicas analíticas para alcanzar este objetivo, ya que no existe una sola técnica que por sí misma proporcione toda la información necesaria.
 - Esta tarea se ve también complicada por la falta de un protocolo que permita la correcta comparación de las medidas llevadas a cabo por diversos autores utilizando diferentes técnicas analíticas. Es necesario continuar con este tipo de investigación con el fin de desarrollar un procedimiento normalizado que permita obtener información de la morfología, pureza y dispersión con resultados comparables a partir un número limitado de técnicas
 - La mayoría de los trabajos publicados se han centrado en la caracterización de SWCNTs, probablemente debido a su estructura más simple y a que en el proceso de síntesis se obtienen muestras con unas características más homogéneas. Es preciso incrementar los trabajos de caracterización acerca de MWCNTs puesto que este tipo de nanotubos son los de mayor difusión debido a sus más amplias aplicaciones industriales y analíticas.

- Se ha desarrollado un estudio completo acerca del uso de los nanotubos de carbono como adsorbentes en extracción en fase sólida (SPE), que ha dado lugar a la publicación del artículo: “*Carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbents prior to atomic spectrometric determination of metal species: A review*”, *Analytica Chimica Acta* **749** (2012) **16–35**, del que se ha concluido que:
 - Los CNTs han sido utilizados con éxito (tanto puros como modificados) como adsorbentes en sistemas de SPE con el fin de realizar el pretratamiento de muestras complejas. Su empleo permite mejorar la sensibilidad y selectividad de los métodos iniciales tras la extracción/preconcentración de los analitos (metales) en muestras biológicas y medioambientales.
 - Se han desarrollado un gran número de aplicaciones basadas en la SPE con nanotubos de carbono como adsorbente para la determinación de metales en diversos tipos de muestras. Los métodos disponibles se han resumido y clasificado de forma sistemática en base al tipo de nanotubo utilizado (puros, oxidados y funcionalizados). Cabe indicar que, en un alto porcentaje de casos considerados, los métodos optimizados fueron únicamente empleados para el análisis de muestras con matriz sencilla (aguas de suministro y medioambientales, etc.).
 - Es necesario mejorar los procesos de síntesis, purificación y caracterización para disponer de CNTs comerciales puros, bien caracterizados y económicos. Por otra parte, es preciso extender la aplicación de sistemas SPE basados en nanotubos de carbono a muestras con matrices más complejas, tanto de tipo biológico (sangre, orina, suero, tejidos, etc.), como medioambientales (suelos, sedimentos, aguas de depuradora, etc.).
- La capacidad de adsorción de los iones metálicos por los nanotubos de carbono puros es baja, pero ésta se incrementa de forma considerable después de su oxidación ya que ésta introduce grupos funcionales (hidroxilo, carbonilo, carboxilo) con capacidad de adsorción para estos analitos. En la presente tesis doctoral se ha estudiado la introducción de grupos ácidos en nanotubos de carbono de pared múltiple empleando tanto diferentes tipos de tratamientos químicos como distintas fuentes de energía. Una vez funcionalizados se han caracterizado los CNTs empleando diversas técnicas y se ha evaluado la posibilidad de

emplearlos como adsorbentes para extracción en fase sólida, llegando a las siguientes conclusiones:

- Se observó una mayor funcionalización de los CNTs (mayor porcentaje de oxígeno, grupos hidróxido y carboxilo) cuando la oxidación se llevó a cabo mediante tratamientos ácidos asistidos con energía de ultrasonidos, microondas o reflujo. Asimismo, se consigue una adecuada dispersión de los nanotubos oxidados cuando se usan disolventes polares.
- De entre los diferentes métodos de oxidación estudiados, el elegido como el más adecuado para la funcionalización de los nanotubos ha sido aquel que emplea una mezcla de H_2SO_4 y KMnO_4 como oxidantes, asistido con una fuente de energía de microondas. La acidez total de los nanotubos de carbono obtenidos por este procedimiento, se midió cuantitativamente usando el método de Boehm y se obtuvo un valor de 3.02 mmol g^{-1} .
- Se comprobó que el uso de tratamientos de oxidación más agresivos está altamente desaconsejado ya que, aunque produce una actividad superficial más elevada, causa también la rotura de los nanotubos, lo que conduce a problemas de obstrucción y/o sobrepresión en las columnas cuando éstos son usados como adsorbentes en SPE.
- Se han desarrollado dos procedimientos de extracción en fase sólida usando MWCNTs como material adsorbente para la extracción de cadmio y para la extracción de plomo en muestras de orina humana, y posterior determinación por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS). Los iones metálicos son adecuadamente retenidos en los MWCNTs oxidados y posteriormente eluidos con éxito mediante una disolución de ácido nítrico. Ambos métodos presentaron características analíticas satisfactorias, y además se demostró su utilidad para la determinación de los contenidos de Cd y Pb en orina de personas sanas no expuestas a dichos metales. Los dos métodos puestos a punto han dado lugar a la publicación de los siguientes artículos: “A new flow injection preconcentration method based on multiwalled carbon nanotubes for the ETAAS determination of Cd in urine”, *Talanta* **85** (2011) 2361–2367 y “Multiwalled carbon nanotubes as a sorbent material for the solid phase extraction of lead from urine and subsequent determination by electrothermal atomic absorption spectrometry” *Spectrochimica Acta Part B* **101** (2014) 15–20.

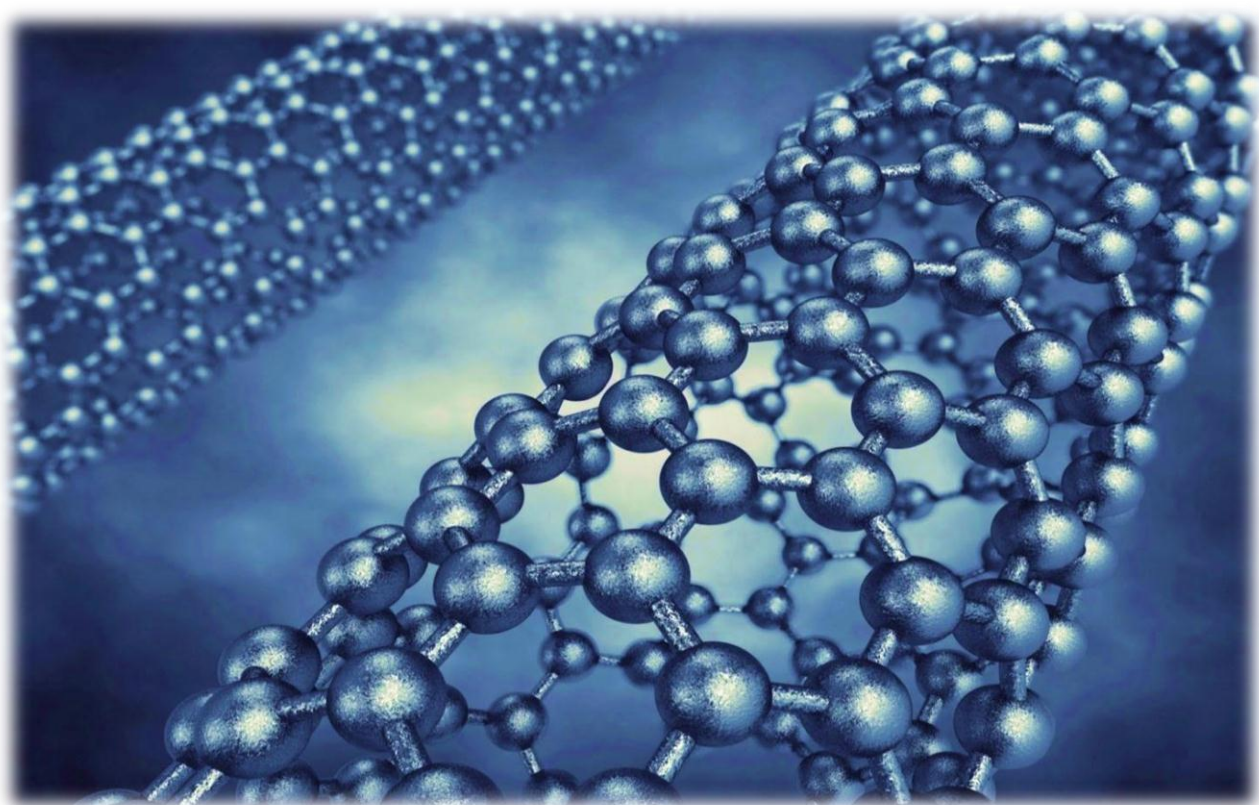
Los nuevos métodos presentaron una serie de ventajas para la determinación de estos metales en orina en comparación con otros métodos ya existentes y publicados en bibliografía:

- La eliminación de la matriz de la muestra alcanzada mediante el proceso de SPE usando CNTs permite la medición de ambos analitos en las muestras de orina, evitando la necesidad de un procedimiento previo de digestión de la muestra. Asimismo, este hecho posibilita la medida de los analitos directamente en la curva de calibración evitando el uso del método de las adiciones estándar.
 - La etapa de preconcentración con MWCNTs produjo un aumento en la detectabilidad de ambos metales en muestras de orina permitiendo su determinación a niveles ultratraza, con LODs de $0.010 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd y Pb, respectivamente.
 - En comparación con otros métodos publicados en la bibliografía para la determinación de Cd y Pb por ETAAS en los que son necesarias la combinación de dos etapas (un procedimiento de digestión previo seguido de una etapa de preconcentración), los nuevos métodos propuestos también ofrecen ventajas por su simplicidad (se evita el proceso de digestión de la muestra) y capacidad de automatización.
 - Los métodos optimizados fueron aplicados a la determinación del contenido de Cd y Pb en muestras de orina de personas sanas no expuestas a estos metales encontrándose para el cadmio un rango de concentraciones de $0.14\text{-}2.94 \mu\text{g L}^{-1}$ y para el Pb de $3.61\text{-}22.9 \mu\text{g L}^{-1}$.
- Se ha desarrollado un nuevo procedimiento analítico de extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) para la extracción y preconcentración conjunta de cadmio y plomo en muestras de orina humana, y posterior determinación mediante ETAAS. El método implica el uso de MWCNTs oxidados, como material adsorbente, en combinación con la formación de *slurries* (SS) y la determinación directa en el *slurry* resultante por ETAAS. El procedimiento analítico desarrollado ha sido publicado “*Determination of cadmium and lead in urine samples after dispersive solid-liquid extraction on multiwalled carbon nanotubes by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry*” ***Spectrochimica Acta Part B* 106 (2015) 13-19.**

El método basado en la DSPE–SS–ETAAS tiene varias ventajas sobre otros métodos ya publicados para la determinación de Cd y Pb en muestras de orina como son:

- La eliminación de la matriz de orina en la etapa de extracción en fase sólida dispersiva evita pretratamientos de muestra laboriosos (como sería la digestión ácida) y permite la medida directa en la curva de calibración.
- Los límites de detección alcanzados (9.7 ng L^{-1} de Cd y $0.13 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb) proporcionan la sensibilidad suficiente para la determinación de bajos niveles de Cd y Pb en muestras de orina.
- El uso de la extracción en fase sólida dispersiva (en lugar de la extracción en fase sólida convencional en columna tradicional) y la inyección directa en el atomizador de la cámara de grafito del *slurry* obtenido, evita las tediosas y lentas etapas de adsorción y elución en columna, aumentando así el rendimiento del método. Se pueden procesar hasta un máximo de 24 muestras por hora.
- El método propuesto ha sido aplicado para el análisis de Cd y Pb en dos materiales de referencia certificados con resultados satisfactorios y en muestras de orina de personas sanas no expuestas a estos metales, estando el contenido en Cd comprendido entre $0.2\text{-}2.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y para el Pb en $2.8\text{-}11.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.





5. ANEXO

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

A		
ABT	2-amino benzotiazol	2-aminobenzothiazole
AFM	Microscopía de fuerza atómica	Atomic force microscopy
APDC	Pirrolidinditiocarbamato de amonio	Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate
B		
BGE	Electrolito de fondo	Background electrolyte
BTEX	Benceno, tolueno, etilbenceno y xileno	Benzene, Toluene, Xylene and Ethylbenzene
C		
CAD	Descarga de arco eléctrico	Current arc discharge
CE	Electroforesis capilar	Capillary electrophoresis
CEC	Electrocromatografía capilar	Capillary electrochromatography
CNTs	Nanotubos de carbono	Carbon nanotubes
CPE	Extracción en el punto de nube	Cloud point extraction
CRMs	Materiales de referencia certificados	Certified reference materials
CTAC	Cloruro de cetil trimetil amonio	Cetyltrimethylammonium chloride
CV-AAS	Espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío	Cold vapor atomic absorption spectrometry
CV-AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica con generación de vapor frío	Cold vapor atomic fluorescence spectrometry
CVD	Deposición química en fase vapor	Chemical vapor deposition
D		
D2EHPA	Acido di (2-etilhexilo)fosfórico	Di-(2-ethylhexyl phosphoric acid)
DDF	Función de deseabilidad de Derringer	Derringer's desirability function
DDTP	O,O-dietil ditiofosfato amónico	Ammonium O,O-diethyl dithiophosphate
DETATA	Copolimero de poliestireno–divinilbenzeno	Polystyrene–divinylbenzene copolymer
DGU	Ultracentrifugación en gradiente de densidad	Density gradient ultracentrifugation
DSPE	Extracción en fase solida dispersiva	Dispersive solid-phase extraction
DWCNT	Nanotubo de carbono de doble pared	Double walled carbon nanotube
DZ	1,5 difenil tiocarbazon	1,5 diphenyl thiocarbazon
E		
EC-THGA	Atomizador de grafito tapado en los extremos y calentado transversalmente	End capped transversely heated graphite atomizer

EDA	Etilendiamina	Ethylenediamine
EDS	Espectroscopía de energía dispersiva	Energy dispersive spectroscopy
EKC	Cromatografía electrocinética capilar	Electrokinetic capillary chromatography
ETAAS	Espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica	Electrothermal atomic absorption spectrometry
F		
FAAS	Espectrometría de absorción atómica con llama	Flame atomic absorption spectrometry
FFF	Fraccionamiento campo-flujo	Field flow fractionation
FI	Inyección en flujo	Flow injection
FIA	Análisis por inyección en flujo	Flow injection analysis
FS	Espectroscopía de fluorescencia	Fluorescence spectroscopy
FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier	Fourier transform-infrared spectroscopy
G		
GC	Cromatografía de gases	Gas chromatography
H		
HFLM-SPME	Microextracción en fase sólida en fibra hueca protegida con una membrana líquida	Hollow-fiber liquid membrane-protected solid-phase microextraction
HG-AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica con generación de hidruro	Hydride generation atomic fluorescence spectrometry
HG-DC-AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica de doble canal con generación de hidruro	Hydride generation double channel atomic fluorescence spectrometry
HiPCO	Monóxido de carbono a alta presión.	High-pressure carbon monoxide
HRTEM	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución	High resolution transmission electron microscopy
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución	High performance liquid chromatography
I		
ICP	Plasma acoplado inductivamente	Inductively coupled plasma
ICP-MS	Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente	Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry/mass spectrometry
ICP-AES	Espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente	Inductively coupled plasma optical emission spectrometry
IDA	Ácido Iminodiacético	Iminodiacetic acid
IR	Espectroscopía infrarroja	Infrared spectroscopy

L

LA	Ablación por láser	Laser ablation
LC	Cromatografía de líquidos	Liquid chromatography
LLE	Extracción líquido-líquido	Liquid-liquid extraction
LOD	Límite de detección	Limit of detection
LOQ	Límite de cuantificación	Limit of quantification

M

MALDI-TOF-MS	Espectrometría de masas con desorción/ionización mediante láser asistida por matriz y detector de tiempo de vuelo de los iones	Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry
MBT	2-mercaptobenzotiazol	2-mercaptobenzothiazole
MEEKC	Cromatografía electrocinética capilar en microemulsión	Microemulsion electrokinetic chromatography
MEKC	Cromatografía electrocinética capilar micelar	Micellar electrokinetic capillary chromatography
MIP	Polímeros de impronta molecular	Molecular imprinted polymer
MNPs	Nanopartículas magnética	Magnetic nanoparticle
MSPE	Extracción en fase sólida magnética	Magnetic solid-phase extraction
MWCNTs	Nanotubos de carbono multicapa	Multiwalled carbon nanotubes

N

NAA	Análisis por activación neutrónica	Neutron activation analysis
NBHAE	N,N'-bis(2-hidroxibenciliden)-2,2'-(aminofeniltio) etano	N,N'-bis(2-hydroxybenzylidene)-2,2'-(aminophenylthio) ethane
ND	Difracción de neutrones	Neutron diffraction
NIR	Espectroscopía de infrarrojo cercano	Near infrared spectroscopy
NTC	Carbono no tubular	Non-tubular carbons

P

P2AT	Poli(2-amino tiofenol)	Poly(2-amino thyphenol)
PA	Alúmina nanoporosa	Nanoporous alumina
PAHs	Hidrocarburo aromático policíclico	Polycyclic aromatic hydrocarbon
PAN	1-(2 piridilazo)-2-naftol	(2pyridylazo)-2-naphthol
PANI	Polianilina	Polyaniline
PB	Plackett-Burman	Plackett-Burman
PCE	Electrocromatografía planar	PlanarElectrochromatography
PE	Polietileno	Polyethylene

PEDOT	Poli (3,4 etilendioxitiofeno)	Poly (3,4 dioxithyophene)
PEG	Polietilenglicol	Polyethylene glycol
PF	Factor de preconcentración	Preconcentration factor
PIGT	Técnica de injerto inducido por plasma	Plasma induced grafting technique
PP	Polipropileno	Polypropylene
PPV	Polifenileno vinileno	Polyphenylene vinylene
PS	Poliestireno	Polystyrene
PSP	Fase pseudoestacionaria	Pseudostationary phase
PTFE	Politetrafluoroetileno	Polytetrafluoroethylene
PZC	Punto de carga cero	Point zero charge
Q		
QCM	Microbalanza con sensor de cuarzo	Quartz crystal microbalance
QuEChERS	Rápido, fácil, barato, efectivo, robusto, y seguro	Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe
R		
RS	Espectroscopía Raman	Raman spectroscopy
RSD	Desviación estándar relativa	Relative standard deviation
S		
SD	Desviación estándar	Standard deviation
SDBS	Dodecilbenceno sulfonato de sodio	Sodium dodecylbenzene sulfonate
SDS	Dodecil sulfato de sodio	Sodium dodecyl sulfate
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño	Size exclusion chromatography
SEF	Factor de mejora de la señal	Signal enhancement factor
SEM	Microscopía electrónica de barrido	Scanning electron microscopy
SIMAAS	Espectrometría de absorción atómica electrotrémica simultánea	Simultaneous electrothermal atomic absorption spectrometry
SPE	Extracción en fase sólida	Solid phase extraction
SPM	Microscopía de proximidad	Scanning probe microscopies
SPME	Micro-extracción en fase sólida	Solid-phase microextraction
SS	Análisis directo de muestras sólidas en suspensiones	Sampling slurry
SS-GFAAS	Espectrometría de absorción atómica con cámara de grafito aplicada a muestras sólidas	Solid-sample graphite furnace atomic absorption spectrometry
STM	Microscopía de efecto túnel	Scanning tunneling microscopy

STPF	Horno con plataforma de temperatura estabilizada	Stabilized temperature-platform furnace
SWCNTs	Nanotubos de carbono monocapa	Single walled carbon nanotubes
T		
TAA	Tris(2-aminoetil)amina	Tris(2-aminoethyl)amine
TAR	4-(2-Tiazolilazo) resorcinol	4-(2-Thiazolylazo)resorcinol
TCDD	(2,3,7,8- tetraclorodibenzo-p-dioxina)	(2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin)
TEM	Microscopía electrónica de transmisión	Transmission electron microscopy
TGA	Análisis termogravimétrico	Thermo-gravimetric analysis
THFA	Atomizador con filtro calentado transversalmente	Transverse heated filter atomizer
TOPO	Óxido de trioctilfosfina	Tri-n-octyl phosphine oxide
TSC	Tiosemicarbazida	Thiosemicarbazide
TS-FF-AAS	Espectrometría de absorción atómica con termonebulización en horno de llama	Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry
U		
UC	Ultracentrifugación	Ultracentrifugation
USLE	Extracción sólido-líquido asistida por ultrasonidos	Ultrasonic assisted solid-liquid extraction
UV	Ultravioleta	Ultraviolet
UV-Vis	Espectroscopía ultravioleta-visible	Ultraviolet-visible spectroscopy
V		
VOC	Compuestos orgánicos volátiles	Volatile organic compound
X		
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X	X-ray photoelectron spectroscopy
XRD	Difracción de rayos X	X-ray diffraction
μ-SPE	Extracción en fase micro-sólida	μ-solid phase extraction
5,4-DABR	5-(4-dimetilamino benciliden)-rodamina	5-(4'-dimethylamino benzyliden)-rhodamine
5-Br-PADAP	2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino) fenol	2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(diethylamino)phenol
8-HQ	8-hidroxiquinoleína	8-hydroxyquinoline

